

**Universidad Autónoma de Madrid**  
**Facultad de Medicina**  
Departamento de Cirugía



***Efecto Precoz del  $\beta$ -bloqueante Esmolol sobre la Regresión  
del Remodelado Coronario en Ratas Espontáneamente  
Hipertensas***

***y***

***Estudio Observacional de la Influencia del Tratamiento  
Crónico  $\beta$ -bloqueante en la Aparición de Complicaciones  
Perioperatorias en Cirugía no Cardíaca***

Memoria de tesis para optar al Grado de Doctor

***Ana Arnalich Montiel***

**DIRECTORES**

Profa. Dra. M<sup>a</sup> Begoña Quintana Villamandos

Profa. Dra. M<sup>a</sup> del Carmen González García



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE MADRID  
Facultad de Medicina

**AUTORIZACIÓN DE LOS DIRECTORES DE TESIS PARA SU  
PRESENTACIÓN**

Dña. M<sup>a</sup> BEGOÑA QUINTANA VILLAMANDOS, Profesora Asociada del Departamento de Farmacología de la Facultad de Medicina de la Universidad Complutense de Madrid y Medico Adjunto del Servicio de Anestesiología y Reanimación del Hospital General Universitario Gregorio Marañón de Madrid y Doña M<sup>a</sup> DEL CARMEN GÓNZALEZ GARCÍA, Catedrática de Fisiología de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Madrid,

**CERTIFICAN:**

Que ANA ARNALICH MONTIEL, Licenciada en Medicina por la Universidad Autónoma de Madrid, ha realizado bajo su dirección el trabajo titulado: **“Efecto Precoz del  $\beta$ -bloqueante Esmolol sobre la Regresión del Remodelado Coronario en Ratas Espontáneamente Hipertensas y Estudio Observacional de la Influencia del Tratamiento Crónico  $\beta$ -bloqueante en la Aparición de Complicaciones Perioperatorias en Cirugía no Cardíaca”**, y que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para su exposición y defensa como **Tesis con Mención de “Doctorado Internacional”**.

Y para que conste y surta los efectos oportunos, firman el presente certificado. En Madrid, 28 de Febrero del 2016.

Fdo.: M<sup>a</sup> Begoña Quintana Villamandos

Fdo.: M<sup>a</sup> del Carmen González García

*“Puede ser un héroe lo mismo el que triunfa que el que sucumbe,  
pero jamás el que abandona el combate”.*

*-Thomas Carlyle-*

## Agradecimientos

Deseo expresar mi agradecimiento a todos aquellos que han hecho posible la realización de esta Tesis Doctoral, muy especialmente:

A mis padres, por inculcarme que el esfuerzo diario es el único camino para alcanzar los sueños y que, si a ello se le añade una buena dosis de ilusión, no hay nada que nos pueda frenar. Aplicar esta filosofía ha sido crucial para mí a la hora de conciliar mi formación como residente con los inicios en el mundo de la investigación.

A mis directoras de tesis, las Profesoras M<sup>a</sup> Begoña Quintana y M<sup>a</sup> del Carmen González, por haber apostado y confiado en mí y por haberme introducido en el mundo de la investigación. Ha sido a veces un camino difícil, especialmente cuando tenía que compatibilizar mis largas jornadas en el hospital con el trabajo experimental diurno/nocturno en el laboratorio. Sin embargo, gracias a ellas, a su ejemplo de entusiasmo y perseverancia, todo ha sido mucho más fácil. Begoña me enseñó que cada contratiempo es una oportunidad para aprender, y Mari Carmen que el trabajo sale siempre adelante con una buena dosis de generosidad y sacrificio.

Al Dr. Maurizio Cecconi, por orientarme y brindarme su generosa ayuda para desarrollar con éxito el estudio clínico durante mi estancia en el hospital Saint George's de Londres, posibilitando que dicho trabajo fuera compatible con mi práctica clínica habitual como anestesióloga.

A todas las personas de la Facultad Medicina de la UAM que me han brindado su ayuda altruista e imprescindible para que la tesis llegara a buen puerto: Los Drs. Emilio y M<sup>a</sup> Jesús Delgado, en la parte histológica; la Profa. María del Rosario López, en el análisis estadístico; la Profa. Silvia Arribas, en el estudio de microscopía confocal; y Luis Condezo, en el estudio de estrés oxidativo. A mis compañeras de laboratorio, Pilar, Laia y Perla, por convertir el laboratorio en algo más que un lugar de trabajo.

Gracias también a mis hermanos, Curro, Elena y Victoria; a mis cuñados José Luis y Karine, y a mi sobrina Helena, por haber creído siempre en mí, comprendiendo mis reclusiones científicas incluso, a expensas, de prescindir de tiempo juntos. Pasar ratos con vosotros, en todo tipo de actos y celebraciones, son momentos en los que una recarga las pilas con risas y anécdotas.

Y finalmente, agradecer de forma muy especial a Marcello, por acompañarme a lo largo de estos últimos años. Su apoyo, comprensión y estímulo continuo han sido el motor que me ha impulsado en todo este tiempo.

Este trabajo ha sido realizado en el marco de los siguientes Proyectos de Investigación en Salud del Instituto de Salud Carlos III:

- ***FIS PI13/01261 (2014-2016). IP: Dra. M<sup>a</sup> Begoña Quintana Villamandos.***
- ***FIS PI10/02831 (2011-2013). IP: Dra. M<sup>a</sup> Begoña Quintana Villamandos.***

# ***ÍNDICE***

<b>ÍNDICE</b>	6
<b>ABREVIATURAS</b>	11
<b>RESUMEN</b>	16
<b>SUMMARY</b>	18

**PARTE I: ESTUDIO DEL EFECTO PRECOZ DEL  $\beta$ -BLOQUEANTE ESMOLOL SOBRE LA REGRESIÓN DEL REMODELADO CORONARIO EN RATAS ESPONTÁNEAMENTE HIPERTENSAS**

<b>1. INTRODUCCIÓN</b>	21
1.1 CARDIOPATÍA HIPERTENSIVA	22
1.1.1 Hipertensión arterial	22
1.1.2 Evolución clínica de la cardiopatía hipertensiva	22
1.1.3 Importancia pronóstica de la cardiopatía hipertensiva	22
1.2 REMODELADO VASCULAR	24
1.2.1 Definición	24
1.2.2 Tipos de remodelado vascular	25
1.2.3 Fisiopatología del remodelado vascular	25
a) Apoptosis celular	26
b) Disfunción endotelial	27
c) Fibrosis de matriz extracelular	31
d) Activación del eje renina-angiotensina-aldosterona	31
1.2.4 Evolución clínica del remodelado vascular	32
1.3 BLOQUEANTES DEL RECEPTOR ADRENÉRGICO $\beta$	33
1.3.1 Receptores adrenérgicos $\beta$ : subtipos y función	33
1.3.2 Farmacocinética y farmacodinamia de los $\beta$ -bloqueantes	36
a) Farmacocinética	36
b) Farmacodinamia	37
1.3.3 Indicaciones clínicas de los $\beta$ -bloqueantes	40
1.3.4 Contraindicaciones y efectos adversos	41

1.3.5	Clorhidrato de Esmolol .....	42
1.4	TRATAMIENTO DEL REMODELADO VASCULAR .....	45
1.4.1	Regresión del remodelado vascular .....	45
1.4.2	Fármacos que actúan sobre el remodelado vascular .....	45
1.5	LA RATA ESPONTÁNEAMENTE HIPERTENSA COMO MODELO ANIMAL DE HIPERTENSIÓN ESENCIAL HUMANA.....	50
1.6	JUSTIFICACIÓN .....	52
<b>2.</b>	<b>HIPÓTESIS Y OBJETIVOS .....</b>	<b>53</b>
2.1	HIPÓTESIS .....	54
2.2	OBJETIVOS .....	54
2.3	PLANTEAMIENTO .....	54
<b>3.</b>	<b>MATERIAL Y MÉTODOS.....</b>	<b>56</b>
3.1	<u>MATERIAL</u> .....	57
3.1.1	Animal de experimentación .....	57
3.1.2	Fármaco .....	58
3.1.3	Material anestésico y quirúrgico .....	58
3.1.4	Material utilizado en cada estudio .....	58
a)	Estudio fisiológico .....	58
b)	Estudio estructura arterial .....	59
c)	Estudio función arterial .....	60
d)	Estudio estrés oxidativo .....	60
e)	Estudio biomarcadores daño endotelial .....	61
3.2	<u>MÉTODOS</u> .....	61
3.2.1	Método anestésico y quirúrgico .....	61
3.2.2	Método del estudio de la estructura arterial .....	62
a)	Histoquímica y microscopía óptica .....	62
b)	Microscopía confocal .....	63
3.2.3	Método del estudio de la función arterial .....	64
3.2.4	Método del estudio del estrés oxidativo.....	66
3.2.5	Método del estudio de biomarcadores de disfunción endotelial.....	72



3.2.6 Método estadístico .....	73
<b>4. RESULTADOS</b> .....	74
4.1 EFECTO DE ESMOLOL SOBRE LOS PARÁMETROS FISIOLÓGICOS DE LA RATA.....	75
4.2 EFECTO DE ESMOLOL SOBRE LOS PARÁMETROS ESTRUCTURALES DE LA ARTERIA CORONARIA.....	77
4.2.1 Estructura de la arteria intramiocárdica .....	77
4.2.2 Morfología de la arteria coronaria descendente anterior .....	79
4.3 EFECTO DE ESMOLOL SOBRE LA REACTIVIDAD VASCULAR DE LA ARTERIA CORONARIA.....	84
4.3.1 Respuesta vasodilatadora .....	84
4.3.2 Respuesta vasoconstrictora .....	86
4.4 EFECTO DEL TRATAMIENTO CON ESMOLOL SOBRE LOS PARÁMETROS DE ESTRÉS OXIDATIVO.....	87
4.5 EFECTO DEL ESMOLOL SOBRE LOS PARÁMETROS DE DISFUNCIÓN ENDOTELIAL .....	89
4.5.1 Estudio en el ventrículo izquierdo .....	89
4.5.2 Estudio en plasma .....	90
<b>5. DISCUSIÓN</b> .....	91
<b>6. CONCLUSIONES/CONCLUSIONS</b> .....	99

## **PARTE II: ESTUDIO OBSERVACIONAL DE LA INFLUENCIA DEL TRATAMIENTO CRÓNICO $\beta$ -BLOQUEANTE EN LA APARICIÓN DE COMPLICACIONES PERIOPERATORIAS EN CIRUGÍA NO CARDIACA**

<b>1. INTRODUCCIÓN</b> .....	103
1.1 EPIDEMIOLOGÍA .....	104
1.2 MECANISMOS IMPLICADOS EN LAS COMPLICACIONES CARDIOVASCULARES PERIOPERATORIAS .....	104
1.3 EVIDENCIA CIENTÍFICA SOBRE EL MANEJO PERIOPERATORIO DE LOS $\beta$ -BLOQUEANTES.....	106
1.3.1 Repercusión del tratamiento $\beta$ -bloqueante sobre el pronóstico.. ..	106
1.3.2 ¿Existe $\beta$ -bloqueante más beneficioso en profilaxis perioperatoria para cirugía no cardíaca? .....	111

1.3.3 Evidencia sobre los beneficios del tratamiento crónico con $\beta$ -bloqueantes.....	112
1.4 JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO .....	114
<b>2. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS .....</b>	<b>115</b>
2.1 HIPÓTESIS .....	116
2.2 OBJETIVOS .....	116
<b>3. MATERIAL Y MÉTODOS.....</b>	<b>117</b>
3.1. DISEÑO .....	118
3.2 INTERVENCIÓN .....	119
3.2.1 Tratamiento $\beta$ -bloqueante .....	119
3.2.2 Fluidoterapia guiada por objetivos .....	119
3.3 VARIABLES .....	121
3.4 MÉTODO ESTADÍSTICO .....	122
<b>4. RESULTADOS .....</b>	<b>123</b>
4.1 CARACTERÍSTICAS BASALES DE LA COHORTE.....	124
4.2 INTRAOPERATORIO.....	127
4.3 POSTOPERATORIO.....	128
<b>5. DISCUSIÓN .....</b>	<b>133</b>
<b>6. CONCLUSIONES/CONCLUSIONS .....</b>	<b>138</b>
<b>CONCLUSIONES GLOBALES/ OVERALL CONCLUSIONS.....</b>	<b>141</b>
<b>BIBLIOGRAFÍA .....</b>	<b>143</b>
<b>ÍNDICE DE FIGURAS Y TABLAS.....</b>	<b>157</b>
<b>ANEXOS 1 y 2.....</b>	<b>160</b>
<b>PUBLICACIÓN INTERNACIONAL DERIVADA DE LA TESIS</b>	

# ***ABREVIATURAS***

<b>ACCP</b>	American College of Chest Physicians
<b>ACDA</b>	Arteria coronaria descendente anterior
<b>ACh</b>	Acetilcolina
<b>ACVA</b>	Accidente cerebrovascular agudo
<b>ADMA</b>	Dimetilarginina asimétrica
<b>ADR-<math>\alpha</math></b>	Receptores adrenérgicos alfa
<b>ADR-<math>\beta</math></b>	Receptores adrenérgicos beta
<b>APACHE II</b>	Acrónimo en inglés de “ <i>Acute Physiology and Chronic Health Evaluation II</i> ”
<b>Af</b>	Valor de absorbancia final
<b>AHA</b>	American Heart Association
<b>Ai</b>	Valor de absorbancia inicial
<b>AMPc</b>	Adenosina monofosfato cíclico
<b>AP-1</b>	Proteína activadora 1
<b>AR</b>	Amplex Red
<b>AR-CAT</b>	Actividad catalasa
<b>ARA-II</b>	Fármaco antagonista del receptor de angiotensina II-subtipo 1
<b>ASL-8123</b>	Metabolito ácido del esmolol
<b>AT<sub>1</sub>R</b>	Receptor de angiotensina II-subtipo 1
<b>AT<sub>2</sub>R</b>	Receptor angiotensina II-subtipo 2
<b>AUC</b>	Área Bajo la Curva
<b><math>\beta</math>-bloqueante</b>	Fármaco bloqueante del receptores adrenérgicos beta
<b>BBSA</b>	Beta-bloqueo en Anestesia Espinal
<b>BBPO</b>	Beta-bloqueo perioperatorio
<b>BCS</b>	Sal disódica del ácido batocuproinedisulfónico
<b>BHE</b>	Barrera hematoencefálica
<b>BSA</b>	Albúmina de suero bovino
<b>[Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub></b>	Niveles intracelulares de calcio
<b>CAM</b>	Moléculas de adhesión celular
<b>CTA</b>	Coelenteramida
<b>CTZ</b>	Coelenterazina
<b>CML</b>	Células musculares lisas
<b>DAI</b>	Desfibrilador automático implantable
<b>DAPI</b>	4'-6-diamino-2-fenilindol
<b>DDAH</b>	Dimetilarginina dimetil-aminohidrolasa
<b>DE</b>	Diámetro externo del vaso

<b>DECREASE-I</b>	Acrónimo en inglés de “ <i>Dutch Ecocardiographic Cardiac Risk Evaluation Applying Stress Echocardiography</i> ”
<b>DI</b>	Diámetro interno del vaso
<b>DIO<sub>2</sub></b>	Aporte global de oxígeno tisular
<b>DIPOM</b>	Acrónimo en inglés de “ <i>Diabetic Postoperative Mortality and Morbidity trial</i> ”
<b>DL</b>	Dislipemia
<b>DM</b>	Diabetes mellitus
<b>DNTB</b>	[5,5-ditiobis (2-nitro ácido benzoico)] o reactivo de Ellman
<b>DOCA</b>	Acetato de desoxicorticosterona
<b>EAP</b>	Edema agudo de pulmón
<b>EGTA</b>	Acido etilenglicol tetraacético
<b>EPOC</b>	Enfermedad pulmonar obstructiva crónica
<b>ESA</b>	Acrónimo en inglés de “ <i>European Society of Anesthesia</i> ”
<b>ESC</b>	Acrónimo en inglés de “ <i>European Society of Cardiology</i> ”
<b>FA</b>	Fibrilación auricular
<b>FC</b>	Frecuencia cardíaca
<b>FFHR</b>	Ratas hipertensas alimentadas con fructosa (acrónimo en inglés de “ <i>Fructose-fed Hypertensive Rat</i> ”)
<b>FGO</b>	Fluidoterapia guiada por objetivos
<b>FR</b>	Factor de riesgo
<b>GMP<sub>c</sub></b>	Guanosín monofosfato cíclico
<b>GP</b>	Grosor de la pared vascular
<b>GP/DI</b>	Índice grosor de pared/diámetro interno del vaso
<b>GSH</b>	Glutación reducido
<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	Peróxido de hidrógeno
<b>HO<sup>•-</sup></b>	Radical hidroxilo
<b>HRP</b>	Peroxidasa de rábano
<b>5-HT</b>	5-hidroxitriptamina [serotonina]
<b>HTA</b>	Hipertensión arterial
<b>HVI</b>	Hipertrofia ventricular izquierda
<b>IAM</b>	Infarto agudo de miocardio
<b>IC</b>	Insuficiencia cardíaca
<b>ICFSP</b>	Insuficiencia cardíaca con función sistólica preservada
<b>IECA</b>	Fármaco inhibidor de la Enzima Convertidora de Angiotensina
<b>IGFR</b>	Receptor del factor de crecimiento insulínico
<b>IL</b>	Interleucina (o interleuquina)

<b>IP<sub>3</sub></b>	Inositol 1,4,5-trifosfato
<b>KHS</b>	Solución Krebs-Henseleit
<b>K<sup>+</sup>-KHS</b>	Solución KHS con alto potasio
<b>KPP</b>	Solución Krebs tamponada con fosfato
<b>KPET</b>	Solución KPP conteniendo EGTA y Tritón
<b>LC-MS/MS</b>	Espectrómetro de masas cuadrupolar en tándem
<b>LI</b>	Lumen interno
<b>MaVS</b>	Acrónimo en inglés de <i>“Metoprolol after Vascular Surgery Study”</i>
<b>MCP-1</b>	Proteína humana quimioatrayente de monocitos (También conocida como CCL2)
<b>MCS</b>	Muerte cardíaca súbita
<b>MCSA</b>	Área de la sección de corte de la media (acrónimo en inglés de <i>“Media Cross Sectional Area”</i> )
<b>MMP</b>	Metaloproteinasas de matriz extracelular o metaloproteasas
<b>MR</b>	Receptores de mineralocorticoides
<b>MT3-MMP</b>	Metaloproteasa de membrana-3
<b>MVI</b>	Masa ventricular izquierda
<b>NF-κB</b>	Factor de transcripción nuclear kappa B
<b>NO</b>	Óxido nítrico
<b>NOS</b>	Óxido nítrico sintasa
<b>eNOS</b>	Óxido nítrico sintasa endotelial
<b>NPS</b>	Nitroprusiato sódico
<b>O<sub>2</sub><sup>-</sup></b>	Anión superóxido
<b>PAD</b>	Presión arterial diastólica
<b>PAS</b>	Presión arterial sistólica
<b>PAI-1</b>	Inhibidor del activador del plasminógeno-1
<b>PCR</b>	Proteína C reactiva
<b>POBBLE</b>	Acrónimo en inglés de <i>“Perioperative Beta-Blockade trial”</i>
<b>POISE</b>	Acrónimo en inglés de <i>“Perioperative Ischemic Evaluation trial”</i>
<b>REVERT</b>	Acrónimo en inglés de <i>“Reversal of Ventricular Remodeling with Toprol-XL trial”</i>
<b>ROS</b>	Especies reactivas de oxígeno
<b>Sat02p</b>	Saturación de oxígeno periférica
<b>SEM</b>	Error estándar de la media
<b>SDMA</b>	Dimetilarginina simétrica
<b>SHR</b>	Rata espontáneamente hipertensa (acrónimo en inglés de <i>“Spontaneous Hypertensive Rat”</i> )
<b>SHR-E</b>	Rata SHR tratada con esmolol

<b>SNC</b>	Sistema Nervioso Central
<b>SNS</b>	Sistema Nervioso Simpático
<b>SOD</b>	Enzima superóxido dismutasa
<b>SOSA</b>	Actividad superóxido dismutasa (acrónimo en inglés de “ <i>Superoxide Anion Scavenging Activity</i> ”)
<b>SPSHRs</b>	Rata espontáneamente hipertensa con propensión al accidente cerebrovascular (acrónimo en inglés de “ <i>Stroke-Prone Spontaneously Hypertensive Rats</i> ”)
<b>SRAA</b>	Sistema o eje renina-angiotensina-aldosterona
<b>TA</b>	Tensión arterial
<b>TAC</b>	Capacidad antioxidante total
<b>Th1</b>	Linfocitos T colaboradores tipo 1 (acrónimo en inglés de “ <i>T helpers</i> ”)
<b>T<sub>1/2</sub></b>	Vida media de eliminación
<b>TNB</b>	Tiol ácido 5- tionitrobenzoico
<b>TGF-β</b>	Factor de crecimiento tisular beta
<b>TNF-α</b>	Factor de necrosis tumoral alfa
<b>UCQ</b>	Unidad de Cuidados postquirúrgicos
<b>VCAM-1</b>	Molécula de citoadhesión vascular-1
<b>WKY</b>	Rata Wistar Kyoto
<b>XO/HX</b>	Sistema xantina oxidasa/hipoxantina

## ***RESUMEN***



La hipertensión arterial produce remodelado de cavidades cardíacas y pared vascular, que conduce a la aparición de complicaciones cardíacas (insuficiencia cardíaca, infarto de miocardio, arritmias graves) con aumento secundario de la morbilidad. Varios fármacos antihipertensivos (ARA-II, IECAS, calcio-antagonistas y  $\beta$ -bloqueantes) han mostrado su capacidad para revertir el anterior proceso de remodelado en un periodo de tratamiento de meses-años, mejorando así el pronóstico de estos pacientes. El esmolol es un fármaco bloqueante  $\beta_1$ -adrenérgico (cardioselectivo) que posee ciertas ventajas farmacocinéticas respecto a otros hipotensores, junto con un efecto bradicardizante e hipotensor rápido y potente. En un estudio experimental previo, realizado en ratas espontáneamente hipertensas (SHR), nuestro grupo demostró que el esmolol reducía significativamente, en tan solo 48 horas de perfusión intravenosa, la hipertrofia ventricular izquierda, siendo el primer fármaco capaz de producir dicho efecto de manera precoz (15). En base a este hallazgo, diseñamos el presente trabajo experimental con el objetivo de investigar si el anterior tratamiento con esmolol revertía el remodelado de la arteria coronaria en la SHR. Nuestros resultados muestran que el fármaco produce dicho efecto y que lo hace a través de los siguientes mecanismos: 1º) reducción del grosor de la pared y de la capa media arterial; 2º) normalización de la reactividad vascular, favorecida por una mayor biodisponibilidad de óxido nítrico; 3º) reducción del estrés oxidativo con un aumento de actividad de la superóxido dismutasa y catalasa; y 4º) disminución de la concentración de dimetilarginina asimétrica que conduce a una mayor producción de óxido nítrico.

Adicionalmente, durante una estancia de 3 meses en el hospital St George's de Londres, hemos diseñado y realizado un estudio clínico observacional con el objetivo de analizar la eficacia del tratamiento crónico  $\beta$ -bloqueante en la profilaxis de las complicaciones de la cirugía no cardíaca. Para ello, hemos evaluado retrospectivamente una cohorte de 80 pacientes sometidos a cirugía mayor no cardíaca, e ingresados en la Unidad de Cuidados Intensivos de este hospital. Tras un periodo de seguimiento de 2-4 semanas desde el postoperatorio inmediato hasta el alta hospitalaria/fallecimiento, los pacientes incluidos en el brazo de tratamiento  $\beta$ -bloqueante presentaron un mayor número de factores de riesgo cardiovascular y mayor incidencia de arritmias en el postoperatorio. Sin embargo, no se encontraron diferencias en la incidencia de otros eventos cardíacos, complicaciones no cardíacas, duración de la estancia hospitalaria o tasa de mortalidad entre los pacientes tratados o sin tratar con  $\beta$ -bloqueantes. Los resultados de este estudio sugieren que el tratamiento crónico con  $\beta$ -bloqueantes no induce la aparición de complicaciones perioperatorias (salvo arritmias postoperatorias) en cirugía no cardíaca. No obstante, se necesitan estudios prospectivos y aleatorizados adicionales, con un tamaño muestral mayor, para dilucidar la eficacia real del tratamiento crónico con  $\beta$ -bloqueantes en la profilaxis de complicaciones perioperatorias tras cirugía no cardíaca.

## ***SUMMARY***

Hypertension induces remodeling of the cardiac cavities and vascular wall, leading to the onset of cardiac complications (heart failure, myocardial ischemia, serious arrhythmias) and the resulting increase in morbidity and mortality. Several antihypertensive drugs (ARA-II, ACE inhibitors, calcium channel and  $\beta$ -adrenergic receptor blockers) have shown their ability to reverse the above remodeling process within months or years of treatment, thus improving the patients' prognosis. Esmolol is a  $\beta_1$ -adrenergic blocking agent (cardioselective) that possesses certain pharmacokinetic advantages over other antihypertensive drugs, and also has fast and powerful bradycardic and hypotensive effects. In a previous experimental study in spontaneously hypertensive rats (SHRs), our group had shown that esmolol significantly reduced, after just 48 hours of intravenous infusion, left ventricular hypertrophy, being the first drug known to produce this effect in such a short period of time (15). Based on this finding, we designed the present experimental study with the objective of investigating whether the above esmolol treatment revert coronary artery remodeling in SHR. Our results show that the drug produces the above effect, and that it does so through the following mechanisms: 1<sup>st</sup>) reducing the thickness of the arterial wall and the middle layer; 2<sup>nd</sup>) normalization of vascular reactivity by increasing nitric oxide bioavailability; 3<sup>rd</sup>) reducing oxidative stress by increasing the activity of superoxide dismutase and catalase; and 4) decreasing the concentration of the asymmetric dimethylarginine, which leads to increased nitric oxide production.

Additionally, during a 3 month stay at St George's Hospital in London, an observational clinical study was designed and performed with the aim of analyzing the effectiveness of chronic therapy with  $\beta$ -blockers in the prophylaxis of perioperative complications of major noncardiac surgery. This was done by retrospectively evaluating a cohort of 80 patients who underwent major noncardiac surgery and were transferred to the Intensive Care Unit of the hospital. After a follow-up period of 2-4 weeks after surgery until discharge/death, the patients who were included in the beta-blocker arm had a greater number of cardiovascular risk factors and a higher incidence of postoperative arrhythmias. However, no differences in relation to the incidence of other cardiac events, noncardiac complications, length of hospital stay or mortality rate were found between patients treated or untreated with  $\beta$ -blockers. The results of this study suggest that chronic treatment with  $\beta$ -blockers does not induce perioperative complications (except postoperative arrhythmias) after noncardiac surgery. However, additional prospective and randomized studies, with a larger sample size, are needed to elucidate the actual effectiveness of chronic treatment with  $\beta$ -blockers as prophylaxis for perioperative complications after noncardiac surgery.

## **PARTE I:**

***ESTUDIO DEL EFECTO PRECOZ DEL  $\beta$ -BLOQUEANTE  
ESMOLOL SOBRE LA REGRESIÓN DEL REMODELADO  
CORONARIO EN RATAS ESPONTÁNEAMENTE  
HIPERTENSAS***

# ***1. INTRODUCCIÓN***

## **1.1. CARDIOPATÍA HIPERTENSIVA**

### **1.1.1 Hipertensión arterial**

La hipertensión arterial (HTA) es una enfermedad crónica caracterizada por la elevación persistente de la presión arterial por encima de los valores establecidos como normales (presión arterial sistólica  $\geq 140$  mm Hg y diastólica  $\geq 90$  mm Hg) (1). Se trata de una de las patologías más prevalentes en la sociedad actual, ya que afecta al 20% de la población adulta a nivel mundial. En España, los estudios revelan una prevalencia de hasta un 30% en adultos, porcentaje que se incrementa exponencialmente con la edad, hasta alcanzar valores superiores al 75% en pacientes de 70-74 años (2).

### **1.1.2 Evolución clínica de la cardiopatía hipertensiva**

La presión arterial es el producto del gasto cardíaco y las resistencias periféricas. En los estadios iniciales de la HTA, la presión arterial se mantiene elevada a expensas, fundamentalmente, del aumento de la actividad simpática y del gasto cardíaco (3, 4). Si persiste un mal control tensional, la enfermedad progresa hacia una segunda fase en la que el gasto cardíaco se normaliza (3) y, para mantener presiones intravasculares elevadas, se produce un incremento de las resistencias vasculares periféricas totales (5). Esto último produce el aumento en la postcarga del ventrículo izquierdo (VI), lo cual desarrolla la hipertrofia de éste músculo e, indirectamente, una alteración de la relajación o capacidad de llenado ventricular. Esta alteración estructural se conoce como “*insuficiencia cardíaca diastólica*” o “*insuficiencia cardíaca con función sistólica preservada*” (ICFSP). Con el tiempo, el VI sufre un proceso de adaptación a presiones intracavitarias elevadas mediante el desarrollo de una miocardiopatía hipertensiva dilatada que, de acuerdo con la ley de Frank-Starling, conduce a disfunción sistólica, congestión venosa retrógrada y edema agudo de pulmón (EAP).

### **1.1.3 Importancia pronóstica de la cardiopatía hipertensiva**

La elevación persistente de la presión arterial (PA) produce una amplia variedad de alteraciones en los denominados “*órganos diana*” [corazón, riñón, sistema nervioso central (SNC) y sistema vascular] y, consecuentemente, un aumento de la morbimortalidad (6). Las alteraciones cardíacas secundarias a la HTA [disfunciones diastólica y sistólica del miocardio, hipertrofia ventricular izquierda (HVI), enfermedad arterial coronaria y alteraciones en el sistema de conducción] se

engloban dentro de una entidad única conocida como “*cardiopatía hipertensiva*” que, en ausencia de tratamiento farmacológico adecuado, evoluciona hasta la aparición de síntomas y signos de insuficiencia cardíaca (IC). En base a todo lo anterior, la detección precoz de la cardiopatía hipertensiva es importante para identificar a los pacientes de alto riesgo y establecer un tratamiento temprano que mejore el pronóstico en este grupo poblacional (7).

La HVI es el sustrato anatómico y fisiopatológico en la génesis de la cardiopatía hipertensiva. Esta entidad, que en su origen surge como mecanismo fisiológico de adaptación del ventrículo izquierdo al exceso de presión intravascular, ha demostrado ser un factor de riesgo independiente de eventos cardiovasculares y mortalidad (8, 9). De hecho, el riesgo de mortalidad es entre 1,5 a 6,8 veces superior en los pacientes hipertensos con signos electrocardiográficos de HVI respecto a los que no presentan dichos signos (10). La HVI se diagnostica, fundamentalmente, mediante ecocardiografía y su prevalencia se incrementa con la edad: 10% - 20% en la población menor de 55 años frente a un 20% - 60% en mayores de 60 años (11). Por otra parte, la prevalencia de la HVI también depende de la gravedad de la HTA: un 12% - 30% en pacientes con HTA leve-moderada frente a un 90% en casos de HTA muy grave (12). El riesgo de eventos cardiovasculares aumenta un 40% por cada 39 g/m<sup>2</sup> de aumento de la HVI según se demuestra en un estudio ecocardiográfico (13).

Durante las tres últimas décadas se han realizado numerosos estudios, experimentales y clínicos, enfocados a identificar mecanismos y opciones terapéuticas capaces de inducir regresión de la HVI. En este sentido, se ha analizado el efecto de diversos fármacos antihipertensivos [antagonistas del receptor de angiotensina II-subtipo 1 (ARA-II), inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina (IECA), bloqueantes del receptor adrenérgico  $\beta$  ( $\beta$ -bloqueantes), calcio-antagonistas y diuréticos] sobre la normalización de la masa o peso ventricular. Los resultados han demostrado que todos ellos, en mayor o menor medida, son capaces de revertir la HVI a través de un proceso conocido como “*regresión del remodelado ventricular*”. En relación con el caso concreto de los fármacos  $\beta$ -bloqueantes, se dispone del estudio aleatorizado REVERT (acrónimo en inglés de “*Reversal of Ventricular Remodeling with Toprol-X trial*”) (14) que evalúa el efecto del tratamiento, a largo plazo, con metoprolol en pacientes asintomáticos con disfunción sistólica del VI. Los resultados de este estudio demuestran una reducción de los volúmenes telesistólico y telediastólico y un aumento en la fracción de eyección del VI, ambos significativos, en el grupo de pacientes tratados con el fármaco en relación al grupo de pacientes sin tratar. Estos resultados demuestran que metoprolol ejerce un efecto cardioprotector frente a la progresión del

remodelado ventricular en pacientes asintomáticos con disfunción sistólica y, por tanto, protege frente a la progresión a IC sintomática. En este mismo sentido, nuestro grupo de investigación ha demostrado recientemente (15) que otro  $\beta$ -bloqueante, el esmolol, es capaz de revertir la HVI en rata espontáneamente hipertensa. La novedad de nuestro estudio con esmolol radica en que el fármaco producía dicho efecto de manera muy precoz, tras ser administrado a la SHR en perfusión continua durante sólo 48 h.

## **1.2. REMODELADO VASCULAR**

### **1.2.1. Definición**

La pared vascular está constituida por células endoteliales (capa íntima), células de músculo liso (capa media) y fibroblastos (capa adventicia) que interaccionan para formar un complejo autocrino-paracrino. Durante el proceso de vascularización, la pared del vaso detecta cambios en el entorno en forma de señales intercelulares y, a través de la producción de mediadores locales (factores de crecimiento local, sustancias vasoactivas), ejerce su influencia sobre la estructura y la función del vaso.

El término “*remodelado vascular*”, utilizado por primera vez por Baumach y Heistad en sus estudios con arteriolas piales de ratas espontáneamente hipertensas propensas al accidente cerebrovascular (SPSHRs, acrónimo del inglés “stroke-prone spontaneously hypertensive rats”), describe la desorganización de los componentes de la pared vascular alrededor de un lumen disminuido (16). Hacia el año 1994, Gibbons (17) propuso que el remodelado vascular es un proceso activo, generalmente adaptativo, caracterizado por cambios estructurales que involucran el crecimiento, muerte, proliferación y migración celular así como la producción y degradación de sustancias de la matriz extracelular arterial, todo lo cual es regulado dinámicamente por la interacción de factores de crecimiento, sustancias vasoactivas y estímulos hemodinámico.

A la hora de poder cuantificar el remodelado vascular, se ha introducido el término “*índice de remodelado*” (18), el cuál se define como la proporción de cambio del lumen (en porcentaje) que contribuye al remodelado del vaso. De acuerdo a esta definición, un índice elevado solo se puede evidenciar en arterias de pequeño calibre que, precisamente, son las principales responsables de los efectos del remodelado en el individuo (19).



### 1.2.2. Tipos de remodelado vascular

Clásicamente, se ha considerado que el remodelado evidenciado en las arterias de pequeño calibre de pacientes hipertensos se encontraba asociado a un incremento del grosor de la pared del vaso (*“remodelado hipertrófico”*). Posteriormente, se introdujo el concepto de *“remodelado eutrófico”* para definir la modificación de la pared del vaso sin cambios en la cantidad o en las características de los componentes del mismo. Actualmente, se reconocen dos tipos de remodelado vascular en las arterias de pequeño calibre (20) (18, 21, 22):

**a) Eutrófico concéntrico.**- Caracterizado por la disminución del lumen interno y externo, incremento del cociente grosor de pared/diámetro interno, sin variación en la cantidad de material de pared ni en el área de la sección transversal del vaso (*“cross-sectional area”*). Es el tipo de remodelado vascular predominante en las SHR y en la hipertensión esencial en humanos. Se piensa que este tipo de remodelado es el resultado de la combinación de apoptosis celular en la periferia del vaso y vasoconstricción crónica de la matriz extracelular (23).

**b) Hipertrófico concéntrico.**- Consistente en el engrosamiento de la pared del vaso hacia el lumen con la consiguiente reducción de su diámetro interno. Este remodelado viene acompañado de un aumento del área de la sección transversal del vaso y del cociente grosor de pared/diámetro interno del vaso. Se observa frecuentemente en humanos con hipertensión secundaria, como por ejemplo la hipertensión renovascular, el aldosterismo primario, el feocromocitoma (24) y la hipertensión asociada a diabetes mellitus (DM) (25, 26).

### 1.2.3. Fisiopatología del remodelado vascular

Aunque los cambios hemodinámicos crónicos alteran la estructura de la pared vascular en la hipertensión, existen otros procesos que también contribuyen al remodelado vascular, tales como la apoptosis celular, la inflamación, la fibrosis o el crecimiento celular (20). Adicionalmente, los cambios en los componentes de la matriz extravascular son, asimismo, mediadores importantes en el proceso de adaptación tisular (27). A continuación se describen algunos de estos procesos que contribuyen al remodelado vascular:

**a) Apoptosis celular.**- El papel de la apoptosis en el remodelado vascular no está aún completamente dilucidado. Numerosos estudios han constatado fenómenos apoptóticos en células de músculo liso de los vasos del corazón (28), cerebro y riñón (29), así como en las arterias de ratas hipertensas (30). Uno de estos estudios encuentra reducción de la apoptosis en células musculares lisas de arterias de pequeño calibre en SHR jóvenes (31), lo cual sugiere que es el descenso en la tasa apoptótica el responsable del incremento del crecimiento de la pared y de las resistencias del vaso en estas ratas. Otro segundo estudio que analiza la tasa de apoptosis en SHR de 8-12 semanas y de 4 semanas encuentra valores más altos de presión arterial, mayor cociente grosor de pared/diámetro interno del vaso así como mayor tasa de apoptosis celular en el grupo de ratas de mayor edad (32).

En el desarrollo de remodelado eutrófico concéntrico vascular observado en las SHR podrían coexistir mecanismos de crecimiento y apoptosis celular, de forma que se produjera crecimiento celular en la pared interna del vaso junto con un incremento de la apoptosis focalizada, fundamentalmente, en la parte externa del vaso. Actualmente, se conocen algunos de los mecanismos implicados en la apoptosis aunque se desconocen otros muchos; tampoco se conoce si la apoptosis surge como mecanismo compensatorio del crecimiento celular concéntrico o es resultado de un proceso primario. A continuación describiremos algunos de los principales mecanismos con un papel reconocido en los procesos apoptóticos implicados en el remodelado vascular:

- **Activación de metaloproteasas.**- Se denomina así a las metaloproteinasas de la matriz extracelular (MMP), las cuales son endopeptidasas dependientes de zinc. La función de las MMP a nivel vascular es la de mantener la homeostasis de las estructuras extracelulares que rodean la pared del vaso; dicha función es ejercida a través de la modulación de interacciones intercelulares, señales de transmisión y liberación de mediadores inflamatorios. Existen diferentes tipos de MMP [colagenasas, gelatinasas, estromelisin y metaloproteasas de membrana (MT-MMP)] cuya síntesis es inducida por ciertas citoquinas así como por interacciones intercelulares y de célula-matriz extracelular en las que juegan un papel importante las integrinas. De igual manera, las transglutaminasas también parecen influir en el remodelado vascular generando interacciones de los componentes fibrilares extracelulares con sitios de unión específicos en células de músculo liso (33).

- **Rarefacción vascular:** Este proceso consiste en una disminución de la densidad de microvasos periféricos que conduce al cierre de las arteriolas (“arteriolas fantasmas”) y capilares y a la posterior desaparición de estas estructuras. La rarefacción se produce a expensas de la activación de fenómenos apoptóticos encaminados a disminuir la reserva vascular, lo cual produce menor débito sanguíneo tisular e incremento del riesgo de complicaciones isquémicas. En la hipertensión arterial, la rarefacción también favorece el mantenimiento de las resistencias periféricas elevadas. Este fenómeno ha sido igualmente observado en SHR en las que se observa que la expresión del gen Bax/BCL-2 (implicado en la apoptosis celular) está disminuida en arterias intramiocárdicas e incrementada en arteriolas y capilares.

**b) Disfunción endotelial:** La disfunción endotelial, o la pérdida de función endotelial adecuada, es un hallazgo común dentro de las enfermedades vasculares. Su instauración es considerada clave en el desarrollo de la arteriosclerosis. El mecanismo más predominante de disfunción endotelial es el aumento de especies reactivas de oxígeno, lo cual puede deteriorar la producción de NO. Cada vez existen más evidencias que asocian disfunción endotelial con hipercolesterolemia, hipertensión, tabaquismo, diabetes y otros factores de riesgo cardiovascular (34). Dentro de los principales mecanismos implicados en el desarrollo de disfunción endotelial se encuentran los siguientes:

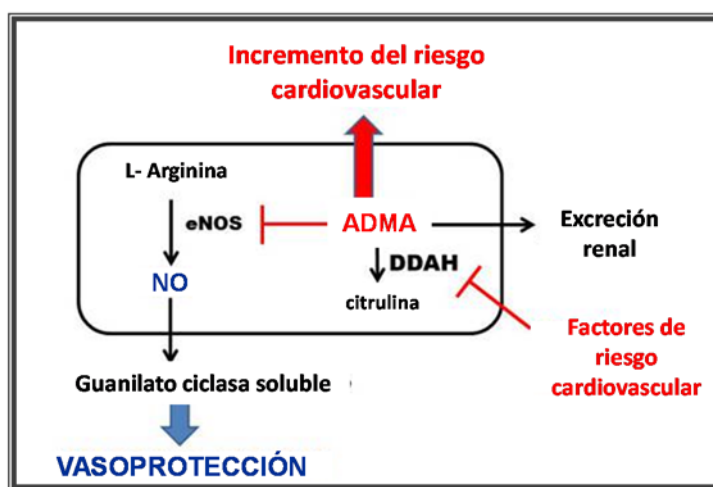
- **Inflamación endotelial.-** La activación endotelial induce la expresión de citoquinas, quimiocinas y moléculas de adhesión celular con el fin de interactuar con leucocitos y otras células inflamatorias para promover un proceso de inflamación tisular. En el modelo experimental de hipertensión arterial, se ha encontrado un incremento de expresión de moléculas de adhesión (integrinas), proteínas inflamatorias [proteína C reactiva (PCR)], y proteínas con poder trombogénico [proteína quimioatrayente de monocitos-1 (MCP-1 o CCL2), inhibidor del activador del plasminógeno-1 (PAI-1)] (35). Los anteriores efectos mediados por la activación endotelial favorecen, por un lado, la transformación de la estructura del árbol vascular con incremento de la proliferación celular, mientras que, por otro lado, reducen la capacidad vasodilatadora endotelio-dependiente. En conjunto, estos últimos cambios predisponen al desarrollo de fenómenos trombo-isquémicos con daño tisular asociado (36). Dentro de los principales mecanismos inflamatorios que producen disfunción endotelial en el modelo de HTA se encuentran los siguientes:

- ✓ Expresión de MCP-1, que participa activamente en el proceso de migración e infiltración endotelial monocito-macrofagocitaria, induciendo la activación de los factores de transcripción nuclear kappa B (NF- $\kappa$ B) y proteína activadora 1 (AP-1), lo cual induce la expresión de la interleucina 6 (IL-6) y la consiguiente activación de la proliferación de las células musculares lisas (37).
- ✓ Incremento niveles de PCR, que induce la adhesión y migración leucocitaria, estimulando la producción de citoquinas pro-inflamatorias y la expresión de moléculas de adhesión celular (CAM) (38). El aumento de la PCR se asocia, con frecuencia, a un estado de procoagulabilidad y a una disminución de la biodisponibilidad de óxido nítrico (NO) endotelial por inhibición la enzima óxido nítrico sintasa (NOS) endotelial.
- ✓ Incremento número de células inflamatorias en adventicia, lo cuál es considerado como una de las principales fuentes de producción de radicales libres de oxígeno implicados en la fisiopatología vascular (39).

- Estrés oxidativo.- Este término, definido por primera vez por Sies y colaboradores (1985), hace referencia a un desbalance entre los productos pro- y anti-oxidantes que conduce al incremento de biodisponibilidad de especies reactivas de oxígeno (ROS) en detrimento de la producción de NO. Por tanto, el estrés oxidativo se asocia a una alteración de la homeostasis celular y de la capacidad vasodilatadora así como a un daño tisular (40). Los estudios clínicos, realizados en pacientes con hipertensión arterial han demostrado que las cifras de presión arterial sistólica y diastólica guardan una relación directa con la producción de biomarcadores de estrés oxidativo y una relación indirecta con los niveles de antioxidantes plasmáticos (41-44). Dentro de los principales procesos de estrés oxidativo implicados en el daño endotelial en el modelo experimental de hipertensión se encuentran los siguientes:

- ✓ Reducción de la biodisponibilidad del NO. Como molécula señalizadora, el NO participa en muchos procesos biológicos, incluyendo el control de la presión arterial, la inhibición de la proliferación y migración celular y la prevención de la agregación plaquetaria (45). Esta molécula es un potente vasodilatador ya que induce la relajación de las células musculares lisas vasculares a través de la activación de la enzima guanilato ciclasa y la consiguiente generación de guanosín monofosfato cíclico (GMP cíclico o GMPc) y disminución del calcio intracelular  $[Ca^{2+}]_i$  (46). A su vez, el NO es sintetizado en el endotelio vascular por la enzima NOS endotelial (eNOS) que transforma la arginina a citrulina mediante una reacción redox en la que participan 5 electrones. El

neurotransmisor acetilcolina (ACh) es el estímulo fisiológico encargado de activar la producción del NO endotelial y de generar la vasodilatación en el endotelio sano. El NO tiene una vida media de pocos segundos y, dada a su alta liposolubilidad, difunde con gran facilidad a través de las membranas celulares. La dimetilarginina asimétrica (ADMA) es un antagonista competitivo de eNOS que se elimina, mayoritariamente, metabolizada por la dimetilarginina dimetilaminohidrolasa (DDAH) y, en una pequeña proporción, sin metabolizar por orina. La mayoría de los factores de riesgo cardiovascular inhiben la actividad de la DDAH y, por tanto, producen un incremento de los niveles de ADMA plasmáticos que interfieren con la generación de NO, incrementando el estrés oxidativo (Fig. 1) (47).



**Figura 1:** Papel fisiopatológico de ADMA y procesos que intervienen en su eliminación.

- ✓ Aumento de especies reactivas de oxígeno (ROS): En el modelo experimental de HTA, la producción de ROS se encuentra aumentada, lo cual favorece el remodelado vascular, la inflamación y la disfunción endotelial (48). Las ROS, derivadas de la molécula de oxígeno ( $O_2$ ) por reducción química parcial, son moléculas muy reactivas ya que poseen electrones desapareados que les permiten reaccionar con otras moléculas orgánicas a través de procesos de oxido-reducción (49). Este grupo incluye a los peróxidos de hidrógeno ( $H_2O_2$ ), producidos cuando el  $O_2$  es reducido con dos electrones, y las formas reactivas de oxígeno que abarcan al radical anión superóxido ( $O_2^{\bullet -}$ ) y al radical hidroxilo ( $HO^{\bullet}$ ). La mitocondria es la principal fuente de producción de estos compuestos, aunque también se sintetizan en retículo endoplásmico y citoplasma. Todas las células de la pared vascular son capaces de generar ROS en presencia de diversos estímulos, entre ellos la HTA (50). En esta última patología, existe un aumento

en la actividad de las enzimas que participan activamente en la producción de ROS (NAPDH, xantina oxidasa y mieloperoxidasa, entre otras).

- ✓ Disminución de las defensas antioxidantes enzimáticas y no enzimáticas: En el grupo de pacientes hipertensos se ha observado una disminución de la expresión de las defensas antioxidantes enzimáticas, tales como la superóxido dismutasa (SOD), glutatión peroxidasa y catalasa (72), así como otros agentes neutralizantes (scavengers) de ROS no enzimáticos (vitamina E, vitamina C, glutatión) (74-78). La SOD constituye la primera defensa antioxidante enzimática que presenta la célula para hacer frente al exceso de ROS, y su acción está complementada por la catalasa de forma que ambas enzimas, conjuntamente, puedan transformar el  $O_2^{\bullet-}$  en  $O_2$  y  $H_2O$ .

- Expresión de moléculas de adhesión celular.- El endotelio disfuncionante activa la expresión de integrinas y otras moléculas capaces de atraer leucocitos y otras células inflamatorias hacia la pared del vaso. Dentro de las anteriores moléculas, se incrementa de forma específica la expresión la E-selectina, considerada uno de los biomarcadores de daño endotelial más importantes.

- Vasoconstricción.- La vasoconstricción crónica se asocia a procesos inflamatorios, activación del depósito de colágeno, acumulación de fibronectina y producción de otros componentes de la matriz extracelular. Todo ello conduce a un remodelado eutrófico concéntrico del vaso. La asociación entre vasoconstricción y remodelado ha sido ensayada *in vivo* en arteria mesentérica de ratas expuestas a una perfusión continua de adrenalina durante 7 días (51). Al finalizar este tratamiento se observó un remodelado concéntrico de estas arterias, el cual fue independiente de la presión intravascular generada dentro de las mismas.

- Expresión de endotelina-1.- Niveles elevados de endotelina-1 han sido encontrados en diversos modelos experimentales de hipertensión, como por ejemplo el representado por las ratas DOCA (tratadas con acetato de desoxicorticosterona) (52). Así mismo, en humanos se ha encontrado un incremento de expresión del RNA mensajero de la preproendotelina-1 en el endotelio de las arterias de pequeño calibre del tejido subcutáneo glúteo (53). La elevación de endotelina-1 se asocia a un remodelado vascular hipertrófico, el cuál puede corregirse con antagonistas de endotelina (54). La elevación de la presión

arterial y/o de los niveles plasmáticos de aldosterona activan la expresión de endotelina-1 en endotelio (55, 56).

**c) Fibrosis de matriz extracelular.**- En el modelo de hipertensión se produce depósito de material fibrótico alrededor del vaso, principalmente en forma de colágeno. Este depósito altera la relación presión pasiva/diámetro interno del vaso y, en definitiva, induce rigidez en la pared vascular. La acumulación del colágeno se manifiesta, de forma muy clara, a nivel de la vasculatura coronaria y, en menor medida, alrededor de la aorta (57) y las arterias mesentéricas de ratas SHR (58, 59). Paradójicamente, se ha observado que en pacientes jóvenes con hipertensión leve-moderada, el incremento del depósito de colágeno puede asociarse a una reducción en la rigidez del vaso (60). Este último dato indica que el incremento de rigidez de la pared del vaso no es fruto del acúmulo de colágeno en sí, sino más bien del tipo de reclutamiento de las fibras de colágeno que se desencadena tras la exposición a presiones intravasculares elevadas.

La fibrosis vascular es activada por una serie de mediadores entre los que figuran la aldosterona (61), la angiotensina II, el factor de crecimiento tisular beta (TGF- $\beta$ ) y la endotelina-1 (55). La angiotensina II promueve la producción de colágeno I en las células de músculo liso vascular, mientras que la aldosterona induce el depósito extracelular de colágeno tipo I y II y de fibronectina (55). Por otra parte, se ha encontrado una relación inversa entre el depósito de colágeno y el nivel de expresión TGF- $\beta$ ; dicho nivel está disminuido en SHR respecto a ratas normotensas WKY (62).

**d) Activación del eje renina-angiotensina-aldosterona.**- Otro pilar importante en el proceso de remodelado vascular es la activación eje renina-angiotensina-aldosterona (SRAA) (63, 64). La asociación entre SRAA y el remodelado vascular se ha podido demostrar experimentalmente en un modelo de hipertensión asociada a síndrome metabólico, como es el de la rata hipertensa alimentada con fructosa (FFHR, acrónimo del inglés "*Fructose-fed Hypertensive Rat*"). En este modelo se constató un incremento de expresión de receptores de angiotensina-II-subtipo 1 (AT<sub>1</sub>R) y descenso del subtipo 2 (AT<sub>2</sub>R), lo cual se asocia a disfunción endotelial, crecimiento e hipertrofia celular de la pared del vaso (65). A continuación, describiremos brevemente algunos de los mecanismos fisiopatológicos que relacionan la activación del SRAA con el remodelado vascular:

- Activación del SRAA.- Se asocia al aumento del estrés oxidativo y activación de los factores de transcripción AP-1 y NK- $\kappa$ B, responsables de la amplificación de la respuesta inflamatoria y activación de la transcripción de citoquinas y quimiocinas.
- Angiotensina II.- Se encarga de la regulación homeostática del sistema cardiovascular; su elevación está implicada en la patogénesis de la enfermedad cardiovascular.
- Aldosterona.- Interacciona con receptores de mineralocorticoides (MR) provocando disfunción endotelial, trombosis, hipertrofia vascular, fibrosis cardíaca, así como el crecimiento y proliferación de las células del músculo liso vascular.

#### 1.2.4. Evolución clínica del remodelado vascular

La HTA se caracteriza por la perpetuación de presiones elevadas en el interior del vaso, mantenidas inicialmente a expensas del aumento del gasto cardíaco y, posteriormente, a expensas del aumento de las resistencias vasculares periféricas totales (5). El remodelado vascular en la HTA surge al inicio como un mecanismo adaptativo compensatorio y, con el tiempo, se transforma en un mecanismo “mal-adaptativo” que compromete la función vascular e incrementa el riesgo de desarrollar infarto agudo de miocardio (IAM) y otros eventos tromboembólicos sistémicos. La evolución natural del remodelado de las arterias coronarias conduce, en un principio, a una alteración estructural del árbol vascular, objetivada en el 100% de los pacientes con hipertensión en estadio I. Conforme progresa el remodelado, a la alteración estructural se le suma la disfunción endotelial y la HVI (presentes sólo en el 60% y el 45% respectivamente, de los pacientes durante esta fase precoz de la enfermedad)(66).

Las alteraciones estructurales en vasos de pequeño calibre tienen un importante valor pronóstico en el paciente hipertenso. Se ha demostrado, de forma contundente, que los pacientes con mayor cociente grosor de pared/diámetro interno (GP/DI) experimentan más frecuentemente eventos cardiovasculares, en forma de infarto o accidente cerebrovascular (67, 68). Actualmente, la búsqueda de terapias eficaces para revertir estas alteraciones morfológicas constituye una de las prioridades en el campo de la investigación cardiovascular.

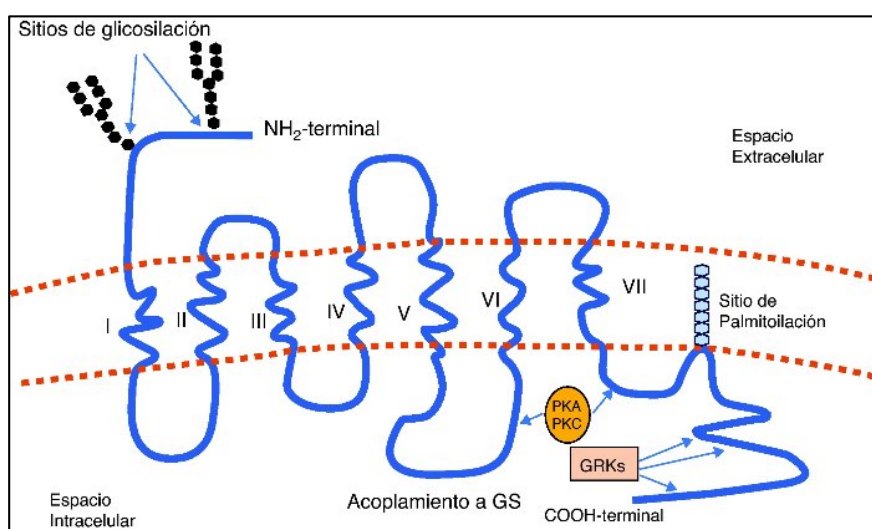


## 1.3 FÁRMACOS BLOQUEANTES DEL RECEPTOR ADRENÉRGICO BETA ( $\beta$ -BLOQUEANTES)

### 1.3.1. Receptores adrenérgicos $\beta$ : subtipos y función

Los  $\beta$ -bloqueantes son fármacos que se unen a los receptores adrenérgicos- $\beta$  (ADR- $\beta$ ), compitiendo con los neurotransmisores endógenos (noradrenalina y adrenalina) por la unión a dicho receptor. El bloqueo farmacológico del receptor inhibe los efectos fisiológicos mediados por la activación del sistema nervioso simpático (SNS), por lo que puede decirse que los  $\beta$ -bloqueantes se comportan como fármacos simpaticolíticos. Algunos  $\beta$ -bloqueantes, al mismo tiempo que impiden la unión del neurotransmisor al ADR- $\beta$ , activan parcialmente dicho receptor. Estos  $\beta$ -bloqueantes con actividad agonista parcial poseen, por tanto, una “*actividad simpaticomimética intrínseca*” (69). Por otro lado, ciertos  $\beta$ -bloqueantes poseen lo que se conoce como “*actividad estabilizadora de membrana*”. Este efecto es similar al efecto estabilizador de membrana que ejercen los bloqueantes de los canales de sodio del grupo de fármacos antiarrítmicos de la clase I de la clasificación de Vaughan Williams.

Los ADR- $\beta$  expresados en la membrana celular pertenecen a la familia de receptores metabotrópicos acoplados a proteínas G. Los receptores de esta familia están conformados por una única proteína con 7 dominios transmembrana, un dominio amino-terminal extracelular y un largo dominio carboxi-terminal intracelular (Fig. 2).



**Figura 2.-** Representación de la estructura terciaria del receptor  $\beta$ - adrenérgico.

La primera identificación de los ADR- $\beta$  fue realizada por el grupo de Ahlquist y cols (70), quien consiguió diferenciar este receptor del receptor adrenérgico- $\alpha$  (ADR- $\alpha$ ) en base a la diferente afinidad de uno y otro receptor por diversos agonistas. Así, la noradrenalina es, predominantemente, un agonista del ADR- $\alpha$  mientras que el isoproterenol lo es de los ADR- $\beta$ ; por su parte, la adrenalina se une a ambos receptores. Posteriormente, han sido identificados varios subtipos de receptores pertenecientes a cada una de las dos clases de adrenorreceptores, entre los que se encuentran los ADR- $\alpha_1$  (postsinápticos) y los ADR- $\alpha_2$  (post- y presinápticos). La activación de los ADR- $\alpha_1$  y los ADR- $\alpha_2$  postsinápticos, a través de su acoplamiento con la proteína heteromérica  $G_q$ , activa la fosfolipasa C, incrementa la producción de inositol 1,4,5-trifosfato ( $IP_3$ ), y eleva los niveles intracelulares de calcio  $[Ca^{2+}]_i$ . Por el contrario, los ADR- $\alpha_2$  presinápticos participan en un mecanismo de autorregulación negativa a través de la proteína  $G_i$ ; este último efecto conduce a la inactivación de la adenilato ciclasa que, a su vez, produce disminución de los niveles de adenosina monofosfato cíclico (AMPc) y de  $[Ca^{2+}]_i$ .

En lo que respecta al ADR- $\beta$ , se han identificado tres subtipos ( $\beta_1$ ,  $\beta_2$  y  $\beta_3$ ) cuya activación, acoplada a las proteínas  $G_s$ , produce la estimulación de la adenilato ciclasa y el aumento de la conversión de ATP en AMPc. El aumento del AMPc en el miocito activa la proteína-quinasa A (PKA), lo cual favorece la apertura de canales de calcio voltaje-dependientes, el incremento  $[Ca^{2+}]_i$  y la contracción del miocito (69). Los tres subtipos de ADR- $\beta$  han sido purificados, su secuencia de aminoácidos determinada y sus genes clonados a partir de material humano. A continuación se describen las implicaciones funcionales de cada subtipo de ADR- $\beta$  en las diferentes localizaciones en las que se expresa, las cuales son recogidas esquemáticamente en la Tabla 1.

**a) Receptor  $\beta_1$** .- Este subtipo de receptor representa el 80% de los adreno-receptores cardiacos, aunque existe una regulación a la baja de su expresión ( $\beta_1:\beta_2$  de 50:50) en pacientes con patología cardíaca (miocardiopatía isquémica o dilatada) (71). Dichos receptores están localizados postsinápticamente y su activación produce un aumento en la fuerza de contracción (efecto inotrópico positivo), en la frecuencia cardíaca (efecto cronotrópico positivo) y en la velocidad de conducción (efecto dromotrópico positivo). Este incremento en la fuerza de contracción y en la frecuencia cardíaca produce un aumento del consumo de oxígeno y trabajo cardíaco (por aumento del volumen sistólico y del volumen minuto). Por otro lado, el aumento del automatismo cardíaco inducido por sobreestimulación del ADR- $\beta_1$

en el nodo sinusal, nodo aurículoventricular, haz de Hiss y fibras de Purkinje, puede originar extrasístoles y aparición de marcapasos ectópicos. Los ADR- $\beta_1$  son estimulados por la noradrenalina y la adrenalina de forma equipotente; también se activan por dobutamina, dopamina e isoproterenol (que se comporta como agonista total). En el aparato yuxtaglomerular, la activación de este subtipo de receptor da lugar a un aumento en la secreción de renina.

**b) Receptor  $\beta_2$** - Con una localización postsináptica y presináptica, este subtipo de receptor es más sensible a la adrenalina que a la noradrenalina. La activación del **ADR- $\beta_2$  postsináptico** produce relajación del músculo liso en arteriolas, vénulas, bronquios, estómago e intestino, vesícula y conductos biliares, músculo detrusor de la vejiga, útero y cápsula esplénica. En el músculo esquelético, la activación del receptor produce aumento de la glucógenolisis, gluconeogénesis, captación de potasio y aumento de la contractilidad. En hígado, la estimulación del receptor conduce a un aumento de la glucógenolisis y la gluconeogénesis, mientras que dicha estimulación activa la secreción de insulina en las células beta de los islotes pancreáticos de Langerhans. El **ADR- $\beta_2$  presináptico** forma parte, junto con los ADR- $\alpha_2$  presinápticos, del mecanismo de autorregulación de la liberación de catecolaminas en la terminal adrenérgica. Estos receptores están localizados en la membrana axonal presináptica y son sensibles a las concentraciones de aminas en el espacio sináptico donde facilitan, a través de mecanismos intracelulares, la liberación de neurotransmisores en respuesta al estímulo nervioso. Los ADR- $\beta_2$  presinápticos son más sensibles a las catecolaminas sinápticas que los ADR- $\alpha_2$  presinápticos, por lo que se activan en presencia de pocas moléculas de estas aminas favoreciendo la liberación del más neurotransmisor. Estos receptores también se activan con el isoproterenol y los agonistas selectivos de los ADR- $\beta_2$ .

**c) Receptor  $\beta_3$** - Este subtipo de receptor ha sido el último en ser identificado. Es considerado un receptor atípico porque no es bloqueado, si acaso muy débilmente, por propanolol y otros  $\beta$ -bloqueantes clásicos. Los ADR- $\beta_3$  son de 3 a 10 veces más sensibles a la noradrenalina que a la adrenalina y también son activados por isoprotrenol. Este subtipo de receptor ha sido identificado en adipocitos y su activación induce lipólisis y elevación de la lipemia. Recientemente, también se le ha atribuido al ADR- $\beta_3$  cierto efecto inotrópico negativo; esta última propuesta explicaría el alto nivel de expresión de este subtipo de receptor en pacientes con fallo cardíaco y, por tanto, su posible papel en el desarrollo de la IC (72).

**Tabla 1.** Efectos mediados por la activación de los diferentes subtipos de receptores adrenérgicos  $\beta$ .

$\beta_1$	$\beta_2$	$\beta_3$
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Inotropismo positivo</li> <li>• Cronotropismo positivo</li> <li>• Nódulo A-V : acorta el PR, acelera la VC</li> <li>• Producción de humor acuoso</li> <li>• Secreción de renina</li> <li>• Liberación de ADH</li> <li>• Estimula la lipólisis</li> <li>• Calorigénesis</li> <li>• Estimula la apoptosis</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Vasodilatación arterio-venosa</li> <li>• Broncodilatación</li> <li>• Relajación intestinal y uterina</li> <li>• Relajación del músculo detrusor</li> <li>• Estimula la glucogenólisis</li> <li>• Estimula la gluconeogénesis</li> <li>• Estimula liberación de NA</li> <li>• Temblor</li> <li>• Hipopotasemia</li> <li>• Liberación de insulina y glucagón</li> <li>• Inhiben la apoptosis</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Vasodilatación</li> <li>• Liberación de NO</li> <li>• Estimula la lipólisis</li> <li>• Estimula la glucogenólisis</li> <li>• Calorigénesis</li> </ul>

### 1.3.2. Farmacocinética y farmacodinamia de los fármacos $\beta$ -bloqueantes

**a) Farmacocinética.-** Dentro de los fármacos  $\beta$ -bloqueantes existen importantes diferencias farmacocinéticas que permiten su clasificación en tres grupos distintos (73). El primer grupo incluye a los  **$\beta$ -bloqueantes lipofílicos** (metoprolol, propanolol, timolol), que presentan una baja biodisponibilidad oral (10-30%) porque, aunque se absorben completa y rápidamente en el tracto gastrointestinal, sufren un elevado metabolismo en la pared intestinal e hígado (efecto de primer paso). En pacientes de edad avanzada, o en aquellos otros con alteración del flujo hepático, insuficiencia cardíaca congestiva o cirrosis hepática, se produce una reducción del metabolismo de estos fármacos con el consiguiente incremento de sus niveles plasmáticos. Los  $\beta$ -bloqueantes de este grupo presentan una vida media de eliminación ( $t_{1/2}$ ) relativamente corta (1-5 horas), pudiendo atravesar la barrera hematoencefálica (BHE) y acceder fácilmente al Sistema Nervioso Central (SNC), por lo que su administración se asocia a una mayor incidencia de efectos secundarios centrales. El segundo grupo está constituido por los  **$\beta$ -bloqueantes hidrofílicos** (atenolol, nadolol, sotalol, esmolol), los cuales se absorben de forma incompleta en el tracto gastrointestinal y son eliminados, sin modificar o en forma de metabolitos activos, por el riñón. Presentan una  $t_{1/2}$  más larga (6-24 horas) que los  $\beta$ -bloqueantes lipofílicos; dicha vida media aumenta aún más cuando el filtrado glomerular está disminuido (edad avanzada, insuficiencia renal previa). Los fármacos de este grupo tienen la ventaja, frente a los lipofílicos, que no interaccionan con otros fármacos metabolizados en

hígado además de tener menos efectos centrales al cruzar difícilmente la BHE. Dentro de este grupo de  $\beta$ -bloqueantes hidrofílicos se encuentra el esmolol que tiene como peculiaridad su acción ultracorta ya que es rápidamente hidrolizado por las esterasas eritrocitarias. El tercer grupo incluye los  **$\beta$ -bloqueantes de eliminación equilibrada renal y hepática**, tales como el bisoprolol (bajo metabolismo de primer paso bajo, acceso al SNC y eliminación hepática y renal al 50%) y el carvedilol (con baja disponibilidad oral por elevado efecto de primer paso y un 16% de eliminación urinaria).

**b) Farmacodinamia.**- Los efectos farmacológicos de los  $\beta$ -bloqueantes son muy diversos dada la amplia distribución y las múltiples funciones que tienen estos receptores en el organismo (Tabla 1). Por otra parte, conviene resaltar que los efectos farmacológicos de los  $\beta$ -bloqueantes pueden ser detectados, o no, dependiendo del grado de activación simpática del órgano diana. Así, en un corazón normal en reposo, el  $\beta$ -bloqueo no produce efectos evidentes; sin embargo, los efectos adquieren gran importancia cuando se produce una descarga simpática de cierta intensidad como consecuencia de ciertas situaciones fisiológicas o patológicas, como el ejercicio físico o situaciones de estrés intenso. Por otra parte, también hay que considerar que existen diferencias en los efectos farmacológicos de los distintos fármacos  $\beta$ -bloqueantes debido, fundamentalmente, a su distinta selectividad por los subtipos de ADR- $\beta$  (Tabla 2). Así, mientras que la primera generación de fármacos era inespecífica frente a los distintos subtipos, la segunda generación es más cardiosselectiva (bloqueo específico- $\beta_1$ ), aunque pierde tal selectividad a dosis altas. Por último, la tercera generación de  $\beta$ -bloqueantes posee también acción vasodilatadora a través de una acción combinada con bloqueo de ADR- $\alpha$ . La tabla 3 recopila los principales efectos farmacodinámicos de este grupo de fármacos a nivel cardiovascular (69, 73).

**Tabla 2.-** Clasificación de los fármacos  $\beta$ -bloqueantes atendiendo a su selectividad por los distintos subtipos de receptores adrenérgicos  $\beta$  y  $\alpha$ .

$\beta_1 + \beta_2$	$\beta_1$	$\beta + \alpha_1$
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Alprenolol*</li> <li>• Carteolol*</li> <li>• Nadolol</li> <li>• Oxprenolol*</li> <li>• Propranolol</li> <li>• Timolol</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Atenolol</li> <li>• Bisoprolol</li> <li>• Celiprolol</li> <li>• Esmolol</li> <li>• Metoprolol</li> <li>• Nebivolol</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Carvedilol</li> <li>• Labetalol</li> </ul>

**Tabla 3.-** Efectos farmacodinámicos de los fármacos  $\beta$ -bloqueantes a nivel cardiovascular.

Efectos del bloqueo de los receptores adrenérgicos $\beta$	
Corazón	Vasos
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Disminución contractilidad (inotropismo -)</li> <li>• Disminución frecuencia cardíaca (cronotropismo -)</li> <li>• Disminución velocidad de conducción (dromotropismo -)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Discreta vasoconstricción</li> </ul>

A continuación, se describen los principales efectos farmacológicos producidos por este grupo de fármacos, tanto a nivel cardiovascular como en otros territorios:

- **Efecto antihipertensivo.-** Los mecanismos responsables del efecto antihipertensivo de los  $\beta$ -bloqueantes son poco conocidos, aunque en dicho efecto han sido implicados la reducción del gasto cardíaco, la inhibición de la actividad de renina plasmática, el aumento de los niveles plasmáticos y la excreción urinaria de prostaciclina y prostaglandina E<sub>2</sub>, la reducción de la síntesis y liberación de endotelina-1, la disminución del tono simpático a nivel del SNC, la disminución de los niveles de  $[Ca^{2+}]_i$  y la disminución del tono simpático a nivel vascular por bloqueo de los ADR- $\beta_2$  presinápticos. Este último mecanismo explicaría el descenso de las resistencias vasculares que se produce al cabo de algunos días de tratamiento con  $\beta$ -bloqueantes.

- **Efecto antiisquémico.-** Los  $\beta$ -bloqueantes disminuyen la demanda de oxígeno miocárdico al disminuir la frecuencia cardíaca, contractilidad y la presión arterial sistólica.

La disminución de la frecuencia cardíaca prolonga el período de llenado diastólico y la duración de la perfusión coronaria.

- **Mejoría de la estructura y función del ventrículo izquierdo.**- Estos fármacos reducen el tamaño del ventrículo y aumentan la fracción de eyección. La función cardíaca mejora a expensas de la disminución de la frecuencia cardíaca, reducción de la demanda de oxígeno miocárdica, inhibición de la producción de ácidos grasos inducida por las catecolaminas de los tejidos adiposos, regulación al alza los receptores  $\beta$ - adrenérgicos y reducción del estrés oxidativo del miocardio.

- **Efecto antiarrítmico.**- Los  $\beta$ -bloqueantes, pertenecientes a la clase II de la clasificación de Vaughan Williams de fármacos antiarrítmicos, basan su eficacia en su capacidad para inhibir el tono simpático sobre la actividad eléctrica cardíaca (disminuyendo la automaticidad del nodo sinusal, la velocidad de conducción a nivel del nodo aurículo-ventricular y la actividad eléctrica de los focos ectópicos). Asimismo, estos fármacos interfieren en los potenciales de acción de los miocitos cardíacos incrementando la duración del potencial de acción y el periodo refractario efectivo. Esta última propiedad confiere a  $\beta$ -bloqueantes eficacia para bloquear las arritmias por reentrada.

- **Otros efectos cardiovasculares.**- Son destacables la inhibición de la apoptosis cardíaca mediada por su efecto bloqueante de los ADR- $\beta_1$ , la capacidad de prevención de la ruptura de la placa de ateroma (al reducir el estrés mecánico) y la alteración en la expresión de genes miocárdicos. Por último, algunos  $\beta$ -bloqueantes presentan propiedades antioxidantes e inhiben la proliferación de las células de la musculatura lisa vascular.

- **Efecto sobre la musculatura lisa bronquial.**- El bloqueo de los ADR- $\beta_2$  del músculo liso bronquial produce broncoconstricción.

- **Efectos metabólicos.**- Los  $\beta$ -bloqueantes producen reducción de la tolerancia a la glucosa, enlentecimiento de la respuesta a la hipoglucemia insulínica, bloqueo de la lipólisis inducida por el ejercicio y aumento de los triglicéridos en el plasma. Estos fármacos también reducen la liberación de renina, lo cual reduce la síntesis de aldosterona, reduce la absorción de sodio y agua, y predispone a la hiperkalemia leve.

- **Efectos sobre el SNC.**- Los efectos centrales de los  $\beta$ -bloqueantes (liposolubles) se producen tras su paso a través de la BHE y consisten, básicamente, en insomnio.

- **Otras acciones farmacológicas.**- Estos fármacos poseen una acción anestésica local al reducir la despolarización de la célula miocárdica por inhibición de la conductancia del sodio por los canales específicos voltaje-dependientes de la membrana celular (acción estabilizante de membrana). También tienen cierto efecto antiagregante plaquetario al tiempo que reducen la afinidad de la hemoglobina por el oxígeno, efectos que contribuyen a la acción antianginosa de estos fármacos. Por otro lado, los  $\beta$ -bloqueantes inhiben la producción de humor acuoso disminuyendo la presión intraocular, a la vez que reducen también la conversión periférica de tiroxina en triyodotirosina (T3), con lo que disminuyen los niveles de esta última.

### 1.3.3. Indicaciones clínicas de los $\beta$ -bloqueantes

Los fármacos  $\beta$ -bloqueantes están claramente indicados en numerosas enfermedades cardiovasculares(73, 74). Entre ellas se incluyen las siguientes:

**a) Infarto agudo de miocardio.**- Durante la fase aguda del infarto de miocardio, los  $\beta$ -bloqueantes están indicados en toda clase de pacientes sin contraindicaciones (clase I grado de evidencia A). Ello se debe a que estos fármacos limitan el tamaño del infarto, reducen las arritmias potencialmente mortales, alivian el dolor y reducen la mortalidad, incluida la muerte súbita.

**b) Prevención secundaria tras infarto agudo de miocardio.**- Los  $\beta$ -bloqueantes están recomendados en el tratamiento a largo plazo en todos los pacientes que se recuperen del infarto agudo de miocardio y no presenten contraindicaciones (clase I grado de evidencia A).

**c) Síndrome coronario agudo sin elevación del ST.**- Estos pacientes deben ser tratados con  $\beta$ -bloqueantes tan pronto como sea posible para controlar la isquemia y prevenir el infarto agudo de miocardio o el reinfarcto (clase I grado de evidencia B). Tras



la fase aguda, todos los pacientes deben ser tratados con  $\beta$ -bloqueantes durante un largo período de tiempo para la prevención secundaria (clase I grado de evidencia A).

**d) Cardiopatía isquémica crónica estable.**- Se debe considerar el  $\beta$ -bloqueante como tratamiento de primera elección en pacientes con angina o isquemia crónica e hipertensión, infarto previo o función ventricular deprimida, aunque parece que estos fármacos son infrautilizados en estas últimas indicaciones. Estos fármacos son muy efectivos para controlar la angina inducida por el ejercicio, mejorar la capacidad de ejercicio y reducir o suprimir los episodios isquémicos sintomáticos y asintomáticos.

**e) Insuficiencia cardíaca.**- Todos los pacientes con insuficiencia cardíaca crónica estable (leve, moderada o severa) producida por miocardiopatías isquémicas, o no isquémicas, y con fracción de eyección del ventrículo izquierdo reducida deben ser tratados con  $\beta$ -bloqueantes teniendo en cuenta las contraindicaciones. En pacientes con disfunción sistólica del ventrículo izquierdo, con o sin insuficiencia cardíaca sintomática tras un infarto agudo de miocardio, se recomienda el tratamiento a largo plazo con un  $\beta$ -bloqueante asociado a un IECA para reducir la mortalidad. Por último, los  $\beta$ -bloqueantes están indicados en pacientes con insuficiencia cardíaca crónica y función sistólica conservada, aunque estos fármacos están claramente infrautilizados en esta indicación clínica.

**f) Arritmias.**- Los  $\beta$ -bloqueantes están indicados en el tratamiento de la taquicardia supraventricular, taquicardias en el síndrome de Wolff-Parkinson-White, fibrilación auricular, flutter auricular y arritmias ventriculares.

**g) Otras indicaciones clínicas.**- Estos fármacos están indicados en la prevención de la muerte súbita, tratamiento de la hipertensión arterial, miocardiopatía hipertrófica y uso profiláctico en perioperatorio de cirugía no cardíaca.

### 1.3.4. Contraindicaciones y efectos adversos de los $\beta$ -bloqueantes

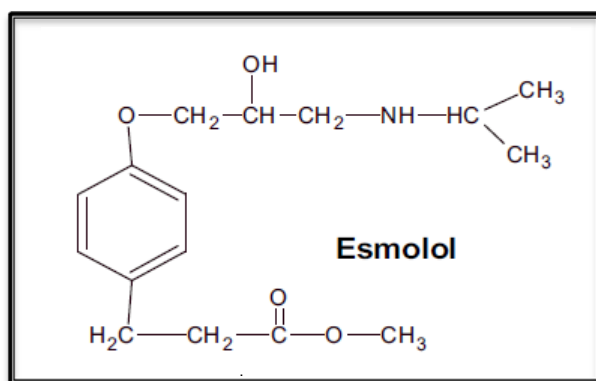
**a) A nivel cardiovascular.**- La mayoría de los efectos secundarios de los  $\beta$ -bloqueantes se relacionan con sus acciones a nivel del miocardio, e incluyen bradicardia, reducción en la capacidad de respuesta al ejercicio, insuficiencia cardíaca, hipotensión y bloqueo

aurículo-ventricular. Por tanto, estos fármacos están contraindicados en pacientes con bradicardia sinusal y bloqueo auriculo-ventricular. Los efectos secundarios que se acaban de citar son el resultado del bloqueo excesivo del tono simpático a nivel del corazón. Es muy recomendable prestar atención a los posibles efectos sinérgicos cardíacos que se desarrollan con la co-administración de otros fármacos, como algunos calcio-antagonistas (verapamilo).

**b) Otros efectos adversos.**- Los  $\beta$ -bloqueantes, especialmente los no cardiosselectivos, también pueden producir efectos indeseados en territorios del organismo donde los ADR- $\beta_2$  están presentes. De esta manera, favorecen la broncoconstricción en pacientes asmáticos o con enfermedad pulmonar obstructiva crónica, haciendo recomendable el uso fármacos  $\beta_1$ -selectivos en este grupo de pacientes. Por otra parte, los  $\beta$ -bloqueantes pueden enmascarar la taquicardia que actúa como señal de aviso en la hipoglucemia inducida por la administración de insulina en el paciente diabético, en quienes debe utilizarse con precaución en este tipo de fármacos. Por último, los  $\beta$ -bloqueantes se asocian con el desarrollo de otros efectos adversos menos conocidos, tales como hipertrigliceridemia, cefaleas, astenia, sensación de mareo o inestabilidad, disfunción eréctil, alteraciones del sueño, frialdad distal de extremidades y depresión.

### 1.3.5. Clorhidrato de Esmolol

El esmolol es un derivado del grupo fenoxipropanolamina con la estructura  $C_{16}H_{26}NO_4$  que aparece representada en la Figura 3.



**Figura 3.**- Estructura química del esmolol

Se trata de un fármaco  $\beta$ -bloqueante cardiosselectivo que carece de actividad simpatomimética intrínseca y estabilizadora de membrana a dosis terapéuticas. Su efecto bloqueante del ADR- $\beta_1$  le confiere actividad cronotrópica e inotrópica negativas reduciendo, por tanto, la frecuencia y la contractilidad cardíacas. Por otro lado, este fármaco posee algunas peculiaridades farmacocinéticas y cardio-hemodinámicas que lo hacen muy interesante dentro de los fármacos  $\beta$ -bloqueantes. Así, el esmolol se administra intravenosamente y presenta una rápida distribución en el organismo, un inicio de acción precoz ( $\sim 2$  minutos) y una corta  $t_{1/2}$  ( $\sim 9$  minutos, en el rango de 4-16 minutos). El fármaco se une en un 55% a proteínas plasmáticas (75) siendo metabolizado rápidamente por las esterasas de los hematíes, dando lugar a un metabolito ácido (ASL-8123) y a metanol. A los 20-30 minutos de cesar la perfusión del esmolol, la concentración plasmática del principio activo es prácticamente indetectable. El aclaramiento de esmolol es 3 veces superior al gasto cardíaco en reposo y 14 veces superior al flujo sanguíneo hepático. La rapidez de aclaramiento de este fármaco se debe a su rápida distribución desde sangre a tejidos y, especialmente, a la rapidez de su metabolismo por las esterasas. Por tanto, el metabolismo y la eliminación del esmolol no dependen de la función hepática y renal; únicamente el 1-2% del esmolol administrado se eliminará sin degradar por orina. El metabolito del fármaco (ASL-8123), el cual si que es eliminado completamente por orina, tiene una actividad  $\beta$ -bloqueante mínima (1500 veces menos potente que el esmolol), aunque puede acumularse en los pacientes con insuficiencia renal grave ( $\text{ClCr} < 30 \text{ ml/min}$ ), obligando a realizar un ajuste de dosis particularizado en estos pacientes. En base a las propiedades farmacocinéticas descritas, puede decirse que el esmolol ofrece la posibilidad de un rápido efecto terapéutico y una rápida reversibilidad de sus efectos frente a otros fármacos  $\beta$ -bloqueantes (76).

Por otra parte, el esmolol actúa sobre el sistema de conducción del nodo sinusal y del nodo aurículo-ventricular, prolongando el tiempo de repolarización del potencial de acción y el período refractario, lo cual da lugar al alargamiento del intervalo PR y disminución de la frecuencia cardíaca. Asimismo, este fármaco produce una importante disminución de la presión arterial, la cual es más acentuada que la observada con otros fármacos  $\beta$ -bloqueantes, siendo el descenso de la presión arterial sistólica producida por esmolol 4-5 veces mayor que el descenso de la diastólica. La reducción de la presión arterial del esmolol es tan marcada, incluso a dosis bajas de fármaco, que no puede sólo deberse a la disminución de la contractilidad cardíaca sino que debe estar mediada, en parte, por algún otro mecanismo adicional aún desconocido (77-79). También se ha

descrito que el esmolol, a dosis altas, pierde su cardioselectividad y produce bloqueo de receptores  $\beta_2$ . Tanto la disminución de la frecuencia cardíaca como de la presión arterial producidos por el esmolol son dosis-dependientes (80).

Respecto a su utilización en práctica clínica, conviene mencionar que el esmolol es un fármaco muy utilizado en quirófano y Unidades de Cuidados Intensivos debido a sus peculiaridades farmacocinéticas y sus efectos cardio-hemodinámicos. En este sentido, se ha publicado un meta-análisis, que incluye 67 ensayos clínicos randomizados, confirmando el efecto cardioprotector del esmolol al disminuir la incidencia de isquemia miocárdica en el paciente intervenido quirúrgicamente (80). Otros estudios han demostrado una disminución de arritmias tras la administración de esmolol durante el período perioperatorio en los pacientes sometidos a cirugía cardíaca (81) y no cardíaca(82). De hecho, el esmolol es uno de los fármacos de elección en la taquicardia supraventricular (fibrilación auricular, flutter auricular y taquicardia sinusal) y en la hipertensión arterial aparecida durante el período perioperatorio. Recientemente, se ha postulado que el bloqueo de los ADR- $\beta_1$  con esmolol puede mejorar las condiciones hemodinámicas del paciente séptico (83, 84), aunque todavía no hay estudios concluyentes en este sentido. En resumen, el esmolol es empleado en situaciones clínicas que requieren un bloqueo de los ADR- $\beta_1$  fácilmente reversible (71, 76).

También se han encontrado resultados beneficiosos de esmolol en la prevención de náuseas y vómitos perioperatorios (85). Por último, conviene resaltar la capacidad del esmolol para disminuir los requerimientos anestésicos y el uso perioperatorio de opioides, aunque todavía se desconoce el mecanismo que subyace en este último efecto de esmolol (86, 87).

## **1.4. TRATAMIENTO DEL REMODELADO VASCULAR**

### **1.4.1. Regresión del remodelado vascular**

El hecho de que la vasoconstricción crónica sea un mecanismo de remodelado arterial concéntrico permite hipotetizar que la vasodilatación inducida por antihipertensivos debe producir el efecto contrario, en forma de remodelado excéntrico, disminuyendo el daño tisular y los fenómenos isquémicos asociados a la HTA (5). Estudios *in vivo* realizados en arteria mesentérica de ratas con hipertensión inducida por adrenalina sustentan la anterior hipótesis; la infusión de amlodipino en estas ratas produjo la reversión del remodelado del vaso (88). Aunque estos resultados han sido corroborados en estudios posteriores con otros fármacos hipotensores, los mecanismos fisiopatológicos implicados en la reversión del remodelado vascular con este tipo de fármacos no han sido aún completamente esclarecidos.

Se han encontrado efectos dispares sobre las resistencias vasculares periféricas según el fármaco vasodilatador utilizado. La expresión de diferentes subtipos de NADPH oxidasas (nox1, nox2 y nox4), y sus correspondientes subunidades, en células de músculo liso y endotelio podría explicar la diferente eficacia mostrada por los distintos fármacos vasodilatadores en relación con la normalización de la estructura vascular (89). Así, varios estudios que utilizan métodos pletismográficos muestran una normalización de la estructura del vaso de pequeño calibre en pacientes tratados con calcio-antagonistas, IECAS o ARA-II, pero no en los tratados con  $\beta$ -bloqueantes (90).

### **1.4.2. Fármacos que actúan sobre el remodelado vascular**

Ensayos clínicos prospectivos y randomizados realizados en pacientes hipertensos sugieren que el tratamiento antihipertensivo previene la aparición de eventos cardiovasculares y que, en dicho efecto protector, juega un papel determinante la capacidad del anterior tratamiento para revertir el remodelado vascular. Se ha demostrado que, en este grupo poblacional, la simple normalización de la tensión arterial sin una regresión del remodelado asociada (por ejemplo, tras la exposición a nitroglicerina) no mejora el pronóstico (91). La evidencia sugiere que la regresión del remodelado vascular del paciente hipertenso se manifiesta de distinta manera en función del vasodilatador empleado y del tipo de arteria estudiada, como veremos a continuación:

**a) Regresión del remodelado en vasos de gran calibre.**- Algunos fármacos hipotensores (calcio-antagonistas, IECAS, ARA-II, espironolactona) parecen alterar las propiedades estructurales de las arterias de gran calibre o de conducción. Los calcio-antagonistas, como el nifedipino (92) y amlodipino (93), los IECAS y los ARA-II, estimulan la apoptosis de las células musculares lisas de la aorta torácica de rata SHR, mientras que la hidralazina no consiguió remedar dicho efecto, a pesar de su acción hipotensora (94). Se conoce poco sobre la fisiopatología que relaciona la apoptosis con el remodelado vascular y los datos son contradictorios; algunos estudios indican que la apoptosis se manifiesta en forma cíclica, durante periodos limitados de tiempo (95) (96). Sin embargo, otros estudios encuentran un incremento mantenido de la apoptosis durante 12 meses de tratamiento con enalapril y amlodipino (93) y a lo largo de 16 semanas con quinapril (97).

Por otra parte, los  $\beta$ -bloqueantes, nitratos, calcio-antagonistas, IECAS, ARA-II y espironolactona (98) disminuyen la rigidez de la pared vascular (98-100). Dentro de los mecanismos conocidos implicados en este proceso, se encuentran los siguientes:

- **Reversión de la rigidez.**- Los nitratos lo hacen a través de su efecto vasodilatador (98). Sin embargo, el resto de fármacos anteriormente mencionados logran aumentar la compliancia vascular a través de mecanismos antifibróticos, particularmente mediante la inhibición del TGF- $\beta_1$ . Esta disminución de la rigidez del vaso genera una disminución en la impedancia, con un retraso en la reflexión de la onda de pulso y, en consecuencia, una reducción de la presión de pulso a nivel central en la aorta.

- **Bloqueo del SRAA.**- Es el mecanismo utilizado por los IECAS y ARA-II que, al bloquear este eje renina-angiotensina-aldosterona, evitan la activación del AT<sub>1</sub>R y, por tanto, reducen el  $[Ca^{2+}]_i$  y la actividad de Pyk-2 y NADPH oxidasa, así como otros mecanismos de remodelado vascular. Adicionalmente, la aldosterona induce depósito de colágeno y, por tanto, la administración de su antagonista, el fármaco eplerenona, reduce la rigidez de todo tipo de arterias, tanto las de gran (101) como las de pequeño calibre (102).

- **Cambios en la distensibilidad del vaso.**- Producida por los  $\beta$ -bloqueantes, como el atenolol (103). Estos fármacos también producen reducción de la frecuencia cardíaca

que incrementa la presión de pulso junto a una vasoconstricción periférica (104). Esto podría explicar, en parte, la menor eficacia de los  $\beta$ -bloqueantes para prevenir los eventos cardiovasculares en comparación a los fármacos inhibidores del SRAA (105).

**b) Regresión del remodelado en vasos de pequeño calibre:**

- Cambios en la estructura de los vasos.- Los cambios en el remodelado de las arterias de pequeño calibre subcutáneas parecen reflejar, de manera fidedigna, los cambios que se producen en otros vasos de pequeño calibre, como las coronarias (106-108). Diversos estudios han demostrado que los IECAS (109-111), ARA-II (112, 113) y algunos calcio-antagonistas (114, 115) normalizan la estructura de arterias de pequeño calibre en tejido subcutáneo glúteo de pacientes hipertensos. En cambio, otro estudio revela que el verapamilo aumenta el número de células musculares lisas apoptóticas en arterias coronarias de SHR (94). Adicionalmente, se ha demostrado que eplerrenona reduce la rigidez de arterias de pequeño calibre en pacientes hipertensos (102); dicho efecto es el resultado de la reducción del depósito de colágeno y del cociente colágeno/elastina en la pared del vaso producidos por el fármaco. El bloqueo del SRAA (con IECA, ARA- II) también mejoró el remodelado en las arterias de pequeño calibre de los sujetos con DM-2 (116, 117). Más recientemente, un agonista selectivo del receptor AT<sub>2</sub>R, el compuesto 21, ha mostrado su capacidad para reducir el depósito de colágeno alrededor de la aorta y coronarias, así como para reducir la rigidez de vasos de pequeño calibre a la vez que mejora la disfunción endotelial en el modelo de ratas espontáneamente hipertensas con propensión al accidente cerebrovascular (SPSHR, acrónimo del inglés “*Stroke-prone spontaneously hypertensive rat*”). Este último efecto se vió potenciado al asociar un tratamiento paralelo con ARA-II, independientemente del efecto observado sobre la presión arterial (118). Sin embargo, los  $\beta$ -bloqueantes, como el atenolol, no parecen mejorar la estructura de los vasos de pequeño calibre.

- Cambios en la función de los vasos.- Diferentes estudios han encontrado que la terapia antihipertensiva mejora la función deteriorada de las arterias de pequeño calibre. Todos los datos parecen coincidir en que la normalización de la función endotelial depende, en gran medida, del tipo de fármaco antihipertensivo más que de su efecto sobre la presión arterial. Así, se ha descrito que la administración de enalapril o amlodipino produce

mejoría de la relajación inducida por ACh (59). Similares resultados han sido observados con ARA-2 (112, 113, 119) y calcio-antagonistas (25, 35, 114, 115). Sin embargo, cuando se analizó si los IECAS mejoraban la función endotelial, a través de la realización de curvas de relajación vascular mediadas por ACh, se obtuvieron resultados muy variables. Aunque el tratamiento agudo con IECAS no mostró una mejoría de la función endotelial *in vivo* (120, 121), el tratamiento crónico durante 2 años con cilazapril si fue capaz de producir una normalización en la función de arterias de pequeño calibre humanas *in vitro* (122). De igual manera, los ARA-II han mostrado su capacidad para normalizar la función endotelial en un modelo experimental de DM precoz (123). Sin embargo, en la DM tipo-2 asociada a hipertensión, la terapia multimodal con ARA-II, asociados a calcio-antagonistas, no mostró beneficio alguno en la función vascular, a pesar de que las alteraciones estructurales del vaso fueron parcialmente corregidas (117).

Por su parte, el tratamiento con atenolol fracasó a la hora de producir mejoría de la función endotelial en varios estudios (21, 124, 125). Esta falta de efecto podría explicarse porque los mecanismos mediados por este fármaco pueden ser diferentes en la capa media y en el endotelio vascular. Alternativamente, la disfunción endotelial puede ser más resistente a este tipo de terapia antihipertensiva, incluso en situación de normalización de la tensión arterial (110, 113). No obstante, recientemente se ha observado que el nevigolol, un antagonista del ADR- $\beta$ 1 y agonista del ADR- $\beta$ 2,3, mejoraba la disfunción endotelial de la arteria pulmonar en un modelo de hipertensión arterial pulmonar en humanos (126).

Los efectos de antioxidantes (vitaminas E y C, carotenos, etc) sobre el remodelado arterial han sido evaluados en un modelo experimental de hipertensión con resultados poco satisfactorios (127, 128). Entre las posibles explicaciones a esta falta de efecto de los antioxidantes se encuentra que la formación de los scavengers de ROS puede ser demasiado tardía, cuando ya ha ocurrido el daño tisular. Estudios clínicos, ensayando inhibidores de la xantina oxidasa (104) y N-acetilcisteína, han demostrado una mejora en la función endotelial y el poder hipotensor en pacientes hipertensos con enfermedad renal crónica y con hipertensión pulmonar (104-106). Recientemente, la imperatorina OW1 (129) ha demostrado producir regresión del remodelado vascular en un modelo de rata con hipertensión renovascular.



- **Efecto sobre arteriolas.**- Las arteriolas, con un DI vascular  $< 100 \mu\text{m}$ , están implicadas en el aumento de las resistencias vasculares observado en el paciente hipertenso (130). Tal como ha sido descrito en las arteriolas piales de las ratas SPSHRs (16), la hipertensión induce procesos de remodelado eutrófico en las arteriolas de mayor calibre. La rarefacción es un tipo de remodelado vascular asociado a hipertensión que implica reducción en la densidad de los vasos de pequeño calibre y es responsable de un 15-30% del incremento de la resistencia arterial periférica en esta patología (131). Aunque el efecto de los fármacos antihipertensivos sobre la rarefacción no ha sido aún demostrado en hipertensión humana, sí que existe evidencia de dicho efecto en modelos experimentales (132). Así, los IECAS han demostrado su capacidad para revertir la rarefacción a través de la reducción de los niveles de angiotensina II y mecanismos de vasodilatación arterial. La activación de los receptores  $\text{AT}_1\text{R}$  ha sido relacionada con el desarrollo de rarefacción a través de mecanismos proapoptóticos, mientras que los  $\text{AT}_2\text{R}$  parecen participar en la vasodilatación arterial y la corrección de la rarefacción (133). Adicionalmente, algunos investigadores han sugerido un efecto antiangiónénico del receptor  $\text{AT}_2\text{R}$ , cuyo papel en la regresión del remodelado permanece aún por resolver (134).

## **1.5. LA RATA ESPONTANEAMENTE HIPERTENSA (SHR) COMO MODELO DE HIPERTENSION ESENCIAL HUMANA**

Dada la complejidad de la fisiopatología de la hipertensión esencial humana, los modelos experimentales de hipertensión han sido muy útiles para identificar los mecanismos que intervienen en el desarrollo y/o el mantenimiento de esta patología, a la vez que son un excelente instrumento donde ensayar el efecto antihipertensivo de nuevos fármacos. Entre los modelos animales de hipertensión esencial destaca el de la SHR. Esta cepa del roedor fue desarrollada por el grupo de Okamoto mediante la selección y el cruce de ratas de la cepa WKY que presentaban una presión arterial elevada (135). La cepa WKY se estableció, en 1971, como control normotenso y también se desarrolló a partir de una colonia WKY a través del cruce entre animales de la misma camada (136). La diferencia genética entre las ratas SHR y WKY es sustancial, comparable a la máxima divergencia que existe entre personas no relacionadas (137-139).

La SHR ha resultado ser un excelente modelo experimental para el estudio de la hipertensión esencial humana debido a las similitudes entre ambas. Entre estas similitudes cabe destacar la predisposición genética a una elevada presión arterial sin etiología conocida, el incremento de la resistencia periférica y una respuesta similar tras el tratamiento con fármacos antihipertensivos (140, 141). Adicionalmente, este modelo experimental de hipertensión muestra una progresión de alteraciones hemodinámicas a lo largo de la vida similares a las que se observan en los pacientes hipertensos. Así, la rata muestra una fase de *“pre-hipertensión”*, seguida de una etapa de desarrollo de la misma que culmina con un período en el que la hipertensión está ya bien establecida. Al igual que sucede en el ser humano, el modelo experimental muestra aumento del gasto cardíaco, sin cambios en las resistencias periféricas, durante las primeras fases de la hipertensión, seguido de una normalización del gasto cardíaco y un incremento de la resistencia periférica total cuando la hipertensión ha sido establecida (142-144).

En la cepa SHR, igual que en humanos, se han encontrado diferencias de género en el desarrollo de la hipertensión, alcanzando los machos valores mayores de presión arterial que las hembras (145). Estos últimos datos sugieren la existencia de un dimorfismo sexual en lo que respecta a la hipertensión arterial en SHR (146-148). Más aún, estudios ecocardiográficos han encontrado diferencias en la estructura del ventrículo izquierdo del macho con respecto a la hembra. Así, aunque en ambos sexos aparece HVI, únicamente en el macho se observa dilatación del ventrículo izquierdo y aumento de la rigidez ventricular (149). Las diferencias observadas en la función cardíaca entre ambos sexos de SHR han sido explicadas en base a diferencias

anatómicas en el ventrículo izquierdo (los músculos papilares de la hembra tienen un mayor capacidad de acortamiento por lo que generan mayor tensión por unidad de masa) (150, 151). El corazón de la hembra tiene, a diferencia del macho, una mayor reserva hipertrófica adaptativa que retrasa la instauración de la insuficiencia cardíaca (152). De hecho, algunos autores no han podido observar insuficiencia cardíaca en las hembras (durante los dos años y medio de edad) (149). En base a todo lo anterior, es la SHR macho, y no la hembra, la utilizada como modelo experimental de hipertensión arterial crónica humana (149).

La edad de la SHR macho es un factor importante a la hora de estudiar los cambios en la estructura y función cardíaca. Esta rata presenta hipertrofia ventricular izquierda a la edad de 4 semanas, disminución de la función sistólica a las 8 semanas y disfunción diastólica a los 3 meses (153). Con el tiempo, la rata SHR adulta, a los 11 meses de edad, presenta una hipercontractilidad (aumento de la función sistólica) que refleja aumento progresivo de la hipertrofia ventricular manteniendo la disfunción diastólica (154). Finalmente, aparece el estadio de insuficiencia cardíaca a los 18-24 meses (155).

La SHR, utilizada como modelo de hipertrofia miocárdica, presenta alteraciones en el metabolismo de ácidos grasos y glucosa a nivel miocárdico, al igual que se ha observado en humanos. La hipertrofia ventricular se asocia a una disminución significativa en el transporte y oxidación de ácidos grasos, así como a alteraciones en el complejo enzimático del ciclo de Krebs(156, 157). De hecho, el corazón de este modelo experimental presenta una importante supresión de la oxidación de ácidos grasos y un aumento de la oxidación de la glucosa (158). La rata WKY muestra un metabolismo de ácidos grasos mayor que la SHR, aunque dicho metabolismo disminuye con la edad en ambas cepas (159). La SHR tiene un déficit del transportador de ácidos grasos CD36 (cromosoma 4) cuya misión es el transporte de estos hacia el interior de la célula (160). Este déficit compromete la utilización de ácidos grasos y aumenta el metabolismo de la glucosa (159). La administración de una dieta con ácidos grasos, que no requiere el transportador CD36, suprime el incremento del metabolismo de la glucosa y la hipertrofia miocárdica en la SHR (160). Estudios recientes confirman que la reducción de la oxidación de los ácidos grasos es consecuencia de la hipertrofia ventricular ya que el déficit de enzimas, como la carnitín-palmito transferasa 1, se produce en la rata SHR a los 4 meses de edad (161) y la hipertrofia ventricular aparece a las 4 semanas.

## **1.6. JUSTIFICACIÓN DEL PRESENTE ESTUDIO EXPERIMENTAL**

A continuación se presentan los principales resultados, extraídos de la revisión bibliográfica realizada y de trabajos previos de nuestro grupo, que justifican la hipótesis y objetivos que se plantean en la presente tesis:

- En clínica humana, la actuación precoz sobre el remodelado cardiovascular utilizando fármacos antihipertensivos disminuye la incidencia de eventos isquémicos cardiacos y la mortalidad en pacientes con hipertensión arterial.
- Los tratamientos prolongados (meses/años) con fármacos antihipertensivos, incluidos los  $\beta$ -bloqueantes (nebivolol), han logrado producir regresión del remodelado arterial coronario en modelos experimentales de hipertensión. Hasta el momento de comenzar la tesis, este efecto no había sido observado tras tratamientos breves con estos fármacos.
- El esmolol es un  $\beta$ -bloqueante cardiosselectivo con peculiaridades farmacocinéticas y farmacodinámicas respecto a otros fármacos de su grupo (162). Su rápido inicio y corta duración de acción, junto con su efecto vasodilatador superior al de otros fármacos de su grupo y no explicable por su efecto  $\beta_1$ , nos indujeron a pensar que podría tener un efecto precoz sobre el remodelado en las arterias coronarias.
- Previamente a este trabajo de tesis, nuestro grupo de investigación había demostrado que la perfusión iv de esmolol, por un periodo corto (48 h), produce regresión precoz de la hipertrofia ventricular en SHR (15); estas ratas fueron utilizadas como modelo experimental de hipertensión arterial primaria e hipertrofia ventricular izquierda secundaria.
- En base a lo anterior es posible que el esmolol actúe también, de manera precoz, sobre el remodelado de las arterias coronarias de las SHR, motivo por el cual decidimos poner en marcha este estudio experimental.

## ***2. HIPÓTESIS, OBJETIVOS Y PLANTEAMIENTO***

## 2.1. HIPÓTESIS

En el presente estudio se estableció como **Hipótesis** que la administración de esmolol, durante un periodo breve, podía producir regresión del remodelado de las arterias coronarias ( $H_1$ ), asumiendo como hipótesis nula ( $H_0$ ) el hecho de que el fármaco no produzca dicho efecto.

## 2.2. OBJETIVOS

**Objetivo principal.-** Estudiar si la administración de esmolol, durante 48 h, induce regresión del remodelado vascular coronario en SHR utilizadas como modelo experimental de hipertensión arterial esencial humana. Dado que en la regresión del remodelado vascular han sido implicados diversos mecanismos fisiopatológicos, en el presente trabajo se investigará cuales de ellos podrían estar involucrados en el efecto del esmolol. Para ello planteamos los siguientes **objetivos secundarios**:

- (i) Analizar si el tratamiento con esmolol afecta a la estructura arterial coronaria.
- (ii) Estudiar la capacidad funcional de la arteria coronaria tras el anterior tratamiento.
- (iii) Evaluar el efecto del fármaco sobre diversos biomarcadores de estrés oxidativo.
- (iv) Estudiar el efecto del anterior tratamiento sobre diversos biomarcadores de disfunción endotelial.

## 2.3. PLANTEAMIENTO DEL ESTUDIO

Para abordar los objetivos propuestos se planteó el siguiente diseño experimental. Como animal de experimentación se seleccionó la rata genéticamente hipertensa (SHR) y la rata Wistar-Kyoto (WKY) como su control normotenso, escogiendo ratas macho de 14 meses de edad de ambas cepas como población de estudio. Las SHR se distribuyeron, de manera aleatoria, en dos grupos según recibieran, por perfusión intravenosa durante 48 h, una solución de esmolol (300  $\mu\text{g/kg/min}$ ) o de placebo (suero fisiológico). Se utilizó como grupo control el constituido por ratas WKY a las que se les infundió placebo (suero fisiológico en perfusión intravenosa),

administrado también durante 48 h. Se incluyeron entre 21-28 animales por grupo experimental. En esta tesis se han combinado las técnicas de análisis de función y de estructura vascular que se relacionan a continuación:

- a) Determinación de parámetros fisiológicos.**- Medición de presión arterial sistólica y frecuencia cardíaca en varios momentos a lo largo del estudio (0, 12, 24, 36 y 48 horas de iniciar el tratamiento).
- b) Evaluación de la estructura arterial coronaria por técnicas histológicas microscópicas.**- El estudio histológico nos permitió determinar el diámetro interno y externo, el grosor de la pared, la relación grosor pared/diámetro interno y el área de sección de la arteria intramiocárdica (163). El estudio de microscopía confocal nos permitió analizar la composición de la pared (capas media y adventicia) de la arteria coronaria descendente anterior (164).
- c) Análisis de la función arterial coronaria.**- El miógrafo de alambre nos permitió estudiar la respuesta vasoconstrictora (5-HT) y vasodilatadora (ACh y NPS) de la arteria coronaria descendente anterior (165).
- d) Estudio de biomarcadores de estrés oxidativo y disfunción endotelial.**- Para identificar los mecanismos implicados en el efecto del esmolol sobre la regresión del remodelado de las arterias coronarias se determinaron los biomarcadores de estrés oxidativo en plasma (nitritos, actividad SOSA, catalasa, capacidad antioxidante total y tioles), así como en ventrículo izquierdo y plasma (ADMA, SDMA y DDAH).

### ***3. MATERIAL Y MÉTODOS***



### 3.1. MATERIAL

#### 3.1.1. Animales de experimentación

Los animales seleccionados para el estudio fueron ratas macho, de 14 meses de edad, de la cepa normotensa WKY (WKY/NHsd, Laboratorio Harlan S.A. Castellar del Valles, Barcelona) y de la cepa SHR (SHR/NHsd, Laboratorio Harlan S.A. Castellar del Valles, Barcelona). Ambas cepas fueron criadas y estabuladas en el Animalario de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Madrid (nº de Registro/EX021-U) en condiciones controladas de temperatura ( $22 \pm 1^\circ\text{C}$ ) y humedad (44 - 55%), con un ciclo de 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad. La alimentación se realizó con pienso AO4 (PANLAB S.L) suministrado en forma de pellets y agua “ad limitum”. El manejo de los animales se realizó siguiendo la normativa legal establecida por la Directiva 2010/63/UE y RD 53/2013 sobre protección de animales utilizados para experimentación y otros fines científicos. El desarrollo experimental del estudio se realizó en la Unidad de Medicina y Cirugía Experimental del Hospital General Universitario Gregorio Marañón de Madrid (nº de Registro/ES 280790000087) y en el Departamento de Fisiología de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Madrid (UAM). Los animalarios de ambos Centros están incluidos en el Registro Oficial de Establecimientos de cría, suministradores y usuarios de animales para la experimentación y otros fines científicos de la Comunidad de Madrid según la Orden de 4 de agosto de 1989 (BOCM de 24 de agosto). El estudio fue aprobado por los Comités Éticos de Experimentación Animal de la UAM y de Investigación del Hospital General Universitario Gregorio Marañón. Los animales se distribuyeron en los 3 grupos, tal como aparece reflejado en la Tabla 4.

**Tabla 4.-** Grupos experimentales y número de animales incluidos en cada grupo. *WKY, ratas normotensas; SHR, ratas espontáneamente hipertensas sin tratar; SHR-E, ratas espontáneamente hipertensas tratadas con esmolol.*

Grupos	WKY	SHR	SHR-E
Nº de animales	21	21	28

### 3.1.2. Fármaco

El fármaco objeto de estudio fue el clorhidrato de esmolol (Brevibloc, Baxter S.A. United Kingdom), solución de 10 mg/ml. El fármaco se administró en perfusión iv. continua a la concentración y velocidad de 300 µg/kg/min durante 48 horas.

### 3.1.3. Material anestésico y quirúrgico

**a) Fármacos anestésicos.**- Administrados intraperitonealmente:

- Ketamina 80 mg/Kg (Ketolar® 50 mg/ml; Parke-Davis, Madrid, España).
- Diazepam 10 mg/Kg (Valium® 10mg/ml; Roche Pharmaceuticals, Madrid, España).

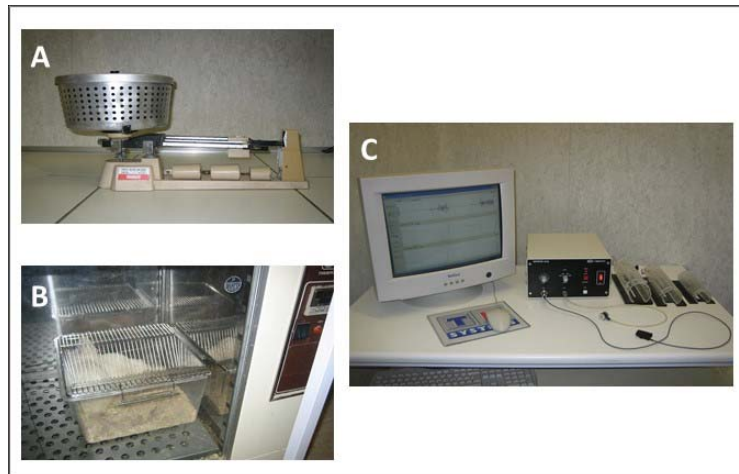
**b) Material quirúrgico.**- Las características del catéter venoso central así como el material utilizado para su colocación en el animal fueron las siguientes:

- Catéter de polietileno, PE 10, diámetro interno 0,28 mm, diámetro externo 0,61 mm (Clay Adams, U.S.A.).
- Material de microcirugía (Schreiberg 70-0950, Germany).
- Hojas de bisturí nº 11 y 22.
- Seda trenzada, sutura no absorbible de 2/0 para ligar vena yugular interna y de 1/0 para la piel (Lorca-Marin, Murcia, España).

### 3.1.4. Material utilizado en cada tipo de estudio

**a) Estudio fisiológico:**

- Balanza de tres barras (OHAUS, Florham Park, N.Y. 07932, U.S.A.) para el pesado de animales pequeños (Fig. 4A).
- Estufa para animal pequeño (JP Selecta S.A. Barcelona, España) (Fig. 4B).
- Dispositivo para medir tensión arterial y frecuencia cardíaca: NIPREM 645 (CIBERTEC S.A., España). Dispone de una banda neumática y un detector de radiación infrarroja que transforma la señal térmica en eléctrica, la cual es registrada por un ordenador con el programa NIPREM 1.5. (Fig. 4C)



**Figura 4.-** Material de laboratorio utilizado para el estudio fisiológico.

**b) Estudio de la estructura arterial.-** Las Tablas 5 y 6 recopilan el material utilizado en este tipo de estudio.

**Tabla 5.-** Lista del material utilizado para el estudio histológico y de microscopía óptica.

Tinción Orceína (Panreac, Cód. 261324. Cód. 251324.1604)
Parafina: Parafín M.P 55-58°C (Panreac, Ref. 256993)
Microtomo: Leica JUNG RM 2025
Estufa "Heraeus" (C.R. MARES, S.A, Madrid)
Dispensador de parafina "Dispenser" para temperaturas regulables desde ambiente +5 hasta 100 °C. (Cód. 4000490)
Formaldehído 30-40% (Panreac)
Depex (Gurr, England,Prod. 361254D)
Portas (Menzel-Glaser 24 x 32 mm, 24 x 40 mm)
Plantilla puntos-rayas con bordes de inclusión-exclusión, según diseño original de de Gundersen y cols (166).
Microscopio óptico: Leica DMLB, x40
Cámara de vídeo de alta resolución: Sony CCD IRIS
Monitor de vídeo: Sony TRINITRON KX-14CP1
Programa de tratamiento de imagen y montaje: programa Adobe Photoshop CS2

**Tabla 6.-** Lista del material utilizado para el estudio de microscopía confocal.

Marcador nuclear DAPI (1:500 de la solución 5 mg/mL)
CitiFluor (Aname, España).
Equipo de microscopía confocal Leica TCS SP2 (Leica Microsystems, Wetzlar, Germany)
MetaMorph Image Analysis Software (Universal Imaging, Co., UK)

**c) Estudio de la función arterial.-** La Tabla 7 refleja el material utilizado en este tipo de estudio.

**Tabla 7.-** Lista del material utilizado para el estudio de la función arterial.

Fármacos: ACh, 5-HT y NPS.
Solución Krebs-Henseleit
Pinzas disección arterias coronarias
Miógrafo de alambre myograph (Multi Myograph System, model 610M; Danish Myo-Technology)
Programa adquisición de datos: Powerlab (AD-Instruments, Castle Hill, Australia)

**d) Estudio del estrés oxidativo.-** Los reactivos y el equipamiento utilizados en este apartado son mostrados en las Tablas 8 y 9, respectivamente. Todos los reactivos fueron suministrados por Sigma-Aldrich, excepto en los que se indica diferente procedencia.

**Tabla 8.-** Lista de reactivos utilizados para el estudio del estrés oxidativo.

Reactivos	
Sal disódica del ácido batocuproinedisulfónico (BCS)	Dinitrofenilhidrazina
Fosfato de potasio monobásico y dibásico	Acido clorhídrico
Sulfato de cobre	Acido tricloroacético
Trolox	Guanidina
Superóxido dismutasa	Etanol
Coelenterazina	Acetato de etilo
Xantina oxidasa, Hipoxantina	Sulfanilamida
Tritón	N-naftil etilendiamina
EGTA	Nitrato de sodio
5,5-ditiobis (2-nitro ácido benzoico)	N-etilendiamina
Glutation reducido	Cloruro de vanadio
Amplex red	Albúmina de suero de bovino
Peroxidasa de rábano (HRP)	Reactivo de Bradford (Bio-Rad)
Peróxido de hidrógeno	Tris base

**Tabla 9.-** Equipos utilizados para el estudio del estrés oxidativo

Equipos
Centrifuga MEDIFRIGE (P Selecta)
Lector de placas multidetección Synergy™ HT (BioTek Instruments, Inc., Potton, UK)
Luminómetro de placas GloMax® 96 (ProOmega Corporation, Madinson, USA)
Baño maría (Unitronic 320 OR)
Incubador IG150
pH-metro XS pH 510 (EUTECH Instruments)
Sistema de agua desionizada Ultra pure Water Milli-Q Plus (Millipore).

**e) Estudio de biomarcadores daño endotelial.-** El equipamiento y la solución utilizada son mostrados en las Tablas 10.

**Tabla 10.-** Equipo y solución utilizados para el estudio de biomarcadores de daño endotelial.

Equipo	Solución
Varian 1200L espectrómetro de masas triple cuadrupolo (Varian, Walnut Creek, California, USA)	20 µM [2H <sub>6</sub> ]-ADMA (50-µL) en solución PBS buffer.

## 3.2. MÉTODOS

### 3.2.1. Método anestésico y quirúrgico

Se procedió a la colocación del catéter venoso central en la yugular interna derecha de la rata sedada con ketamina y diazepam. Para ello, tras realizar una incisión longitudinal (~ 2 cm) con bisturí en la región latero-cervical del animal, se disecó la yugular interna derecha. El catéter venoso se tunelizó por debajo de la piel dirigiéndolo hacia la nuca del animal. Como medida de protección del catéter, se colocó un dispositivo cervical en el animal. Una vez que el animal ya no estaba bajo los efectos de la sedación, se hizo pasar a través del extremo distal del catéter el tratamiento en perfusión continua; una solución salina estéril (grupos SHR y WKY) o bien esmolol (grupo SHR-E). Se tomaron tensiones arteriales no invasivas, en distintos tiempos, durante las 48 horas de perfusión. Transcurrido ese periodo, el animal fue sacrificado por decapitación para, inmediatamente, extraer el corazón con objeto de realizar los correspondientes estudios estructurales/funcionales de la arteria coronaria.

### 3.2.2. Método para el estudio de la estructura arterial

**a) Histoquímica y microscopía óptica.-** Se utilizó para el análisis morfométrico de la arteria. Una vez extraído el corazón y fijada la pieza con formaldehído al 4%, se realizaron cortes transversales del ventrículo izquierdo desde el aparato subvalvular hasta el ápex. Las piezas fueron talladas y sometidas a un proceso de deshidratación en solución alcohólica de concentración creciente para finalizar con la introducción de la pieza en acetato de butilo. Finalmente, la pieza se embebió en parafina y se procedió a realizar cortes histológicos seriados de 5  $\mu\text{m}$  de grosor. Con objeto de identificar la elastina vascular, los cortes fueron sometidos a un proceso de tinción con una solución de orceína, cuya composición y protocolo se esquematizan en la Tabla 11. El correspondiente análisis morfométrico del vaso se realizó mediante visualización de los cortes con el microscopio óptico Leica DMLB (40x) equipado con la cámara digital Sony CCD IRIS.

**Tabla 11.-** Composición de la solución de orceína y protocolo de tinción.

Solución Orceína	Protocolo de tinción
Orceína . . . . . 5 gr.	1) Desparafinar con xilol
Etanol (ETOH) 100° . . . 50 cc.	2) Hidratación con ETOH decreciente (100°, 96° y 70°)
Alcohol Clorhídrico . . . . . 1 %	3) Lavado con agua destilada
ETOH 70% . . . . . 1000 cc.	4) Incubación con orceína (60° C, 30 minutos)
HCl . . . . . 10 cc.	5) Lavado
	6) ETOH 96%
	7) Lavado
	8) Incubación con Hematoxilina
	9) Deshidratación con ETOH creciente (70°, 96° y 100°)
	10) Xilol
	11) Montaje en portas con Dépex

La zona subepicárdica fue diferenciada microscópicamente de la intramiocárdica siguiendo el método descrito por Lunkenheimer y cols (167). Una vez localizada la rama intramiocárdica de la arteria obtusa marginal (rama de la arteria circunfleja), se seleccionaron 2 vasos por rata y 5 ratas por cada uno de los tres grupos, lo que supuso que se analizaran un total de 30 arterias intramiocárdicas usando un microscopio óptico equipado con cámara de alta resolución. El análisis morfométrico se realizó mediante el método de Gundersen y cols (166). Para ello se tomó

la medida (en  $\mu\text{m}$ ) del Diámetro Interno (DI) y Externo (DE) de la arteria intramiocárdica (163), lo que permitió determinar las tres variables siguientes:

- Grosor de pared (íntima+media+adventicia)(GP):

$$\text{GP } (\mu\text{m}) = (\text{DE} - \text{DI})/2$$

- Relación grosor pared/diámetro interno (GP/DI), expresada en porcentaje:

$$\text{GP/DI } (\%): \text{GP/DI} \times 100$$

- Área de la sección del vaso o “cross sectional area”:

$$\text{AR } (\mu\text{m}^2): (\pi/4) \times (\text{DE}^2 - \text{DI}^2)$$

***b) Microscopía Confocal.***- Este método fue empleado para cuantificar el grosor de pared, diferenciando la capa media y la adventicia de la arteria coronaria descendente anterior izquierda (segmentos de 1 mm de longitud). También permitió contar el número de células de estas capas. Se estudiaron 5 animales por grupo de ratas (WKY=5, SHR=5, SHR-E=5).

- ***Procesamiento del vaso.***- Se realizó de acuerdo a trabajos previos de nuestro grupo (164). Brevemente, los segmentos arteriales fueron fijados con formaldehído al 4%. Cada segmento arterial fue sometido a un corte transversal (anillo) y otro longitudinal (en la zona media del vaso para dividirlo en dos partes longitudinales iguales). Los cortes fueron lavados con suero salino y teñidos con el colorante nuclear DAPI (1:500 de una solución 5 mg/mL). El anillo y las dos partes longitudinales del vaso fueron montados en portas con citifluor. El montaje de una de las secciones longitudinales se realizó con la capa endotelial hacia arriba (para visualizar la capa media), mientras que la otra sección longitudinal se dispuso con la adventicia hacia arriba (para estudiar la capa adventicia). En cada una de las arterias se procedió a analizar, de forma aleatoria, 3 regiones por cada sección longitudinal, visualizando las imágenes con un microscopio confocal con objetivo 20x y zoom de 8 (405 nm/emisión 410-475 nm). De cada región se capturaron las imágenes correspondientes a cortes seriados (de 1  $\mu\text{m}$  de grosor) de la adventicia (desde su parte externa hasta la primera célula de la zona media) y de la media (desde el endotelio hasta la primera célula de la zona adventicia). Este procedimiento permitió determinar el

grosor de las capas media y adventicia. El conteo celular de ambas capas se pudo realizar a través de la tinción de los núcleos de las células marcados con DAPI. Las imágenes correspondientes a los anillos fueron capturadas con un objetivo 20x y zoom de 2 y sirvieron para cuantificar el grosor de la capa media.

- **Análisis cuantitativo de la estructura general y celular del vaso.**- Se realizó a partir de las imágenes confocales seriadas utilizando el software de análisis de imagen MetaMorph (Universal Imaging, Co., UK) ya descrito en estudios previos del grupo (164). Se cuantificaron los siguientes parámetros:
  - ✓ **Grosor de las capas media y adventicia:** las células de la adventicia y las musculares lisas (CML) son reconocibles por su morfología y orientación. Siendo la distancia entre secciones de 1  $\mu\text{m}$ , el grosor de la media y de la adventicia se corresponde con el número de planos en los que aparecen células musculares lisas o adventiciales, respectivamente (área de conteo 8731,03  $\mu\text{m}^2$ ).
  - ✓ **Número de células por mm de longitud del vaso:** se determinó contando el número de núcleos que aparecen en las imágenes confocales seriadas correspondientes a cada capa y calculado por milímetro de longitud. También se procedió a calcular la densidad celular en cada capa (número de células/ $\text{mm}^3$ ).

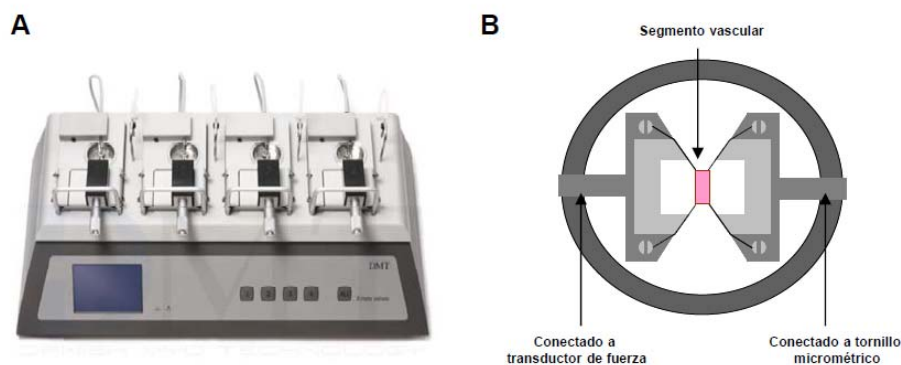
### 3.2.3. Método de estudio de la función arterial

Para este tipo de estudio, se utilizaron un total de 15 ratas distribuidas en tres grupos (WKY=5, SHR=5, SHR-E=5). Los corazones fueron extraídos y mantenidos a 4°C en una solución oxigenada de Krebs-Henseleit (KHS) con la siguiente composición (en mmol/L): (115 NaCl, 25 NaHCO<sub>3</sub>, 4,7 KCl, 1,2 MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O, 2,5 CaCl<sub>2</sub>, 1,2 KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 11,1 glucosa, 0,01 Na<sub>2</sub>EDTA), ajustada a pH 7,4. La arteria descendente anterior izquierda fue disecada bajo microscopio y cortada en segmentos (~ 2 mm de longitud). Los segmentos, montados en un miógrafo de alambre conectado a un Sistema Powerlab de adquisición de datos (Fig. 5), fueron mantenidos en solución oxigenada KHS a 37°C (165). Posteriormente, las arterias fueron normalizadas al diámetro de luz efectivo (0,9 L100), correspondiente al tono basal del vaso. L100 es el diámetro interno del vaso en condiciones de máxima relajación y bajo una presión transmural de 100 mm Hg. Tras un tiempo de estabilización, los segmentos fueron estirados a su diámetro de luz óptimo



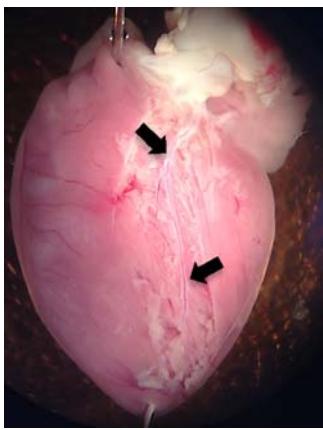
para desarrollar tensión activa. Para asegurar la integridad funcional de la arteria, ésta fue estimulada con una solución KHS con alto potasio ( $K^+$ -KHS, 120 mmol/L).

**Figura 5.-** Montaje de arterias en el miógrafo de alambre. A) Sistema para miografía de alambre (DMT)



multi-chamber wire myograph. B) Montaje del segmento de arteria coronaria en la cámara del sistema.

Las curvas dosis-respuesta de ACh ( $10^{-9}$  a  $10^{-4}$  mol/l) fueron realizadas en segmentos arteriales precontraídos con 5-HT ( $3 \times 10^{-7}$  mol/l). La respuesta vasodilatadora se expresó como porcentaje de la contracción máxima inducida por 5-HT en cada segmento. Seguidamente, tras un periodo de lavado de 30 minutos, se realizaron curvas dosis-respuesta a 5-HT ( $10^{-9}$  a  $3 \times 10^{-5}$  mol/l). La contracción mediada por 5-HT se expresó como porcentaje de la respuesta máxima de la arteria contraída con  $K^+$ -KHS. Finalmente se procedió a realizar curvas dosis-respuesta de NPS ( $10^{-9}$  a  $10^{-4}$  mol/l) en segmentos precontraídos con 5-HT ( $3 \times 10^{-7}$  mol/l) para estudiar la vasodilatación endotelio-independiente del vaso.



**Figura 6.-** Corazón de rata sumergido en suero fisiológico y fijado, mediante alfileres entomológicos, a una lámina de silicona que cubre el fondo de una placa de Petri. Esta fijación permite disecar la arteria coronaria descendente anterior. Las flechas indican la porción de arteria disecada y utilizada en los experimentos.

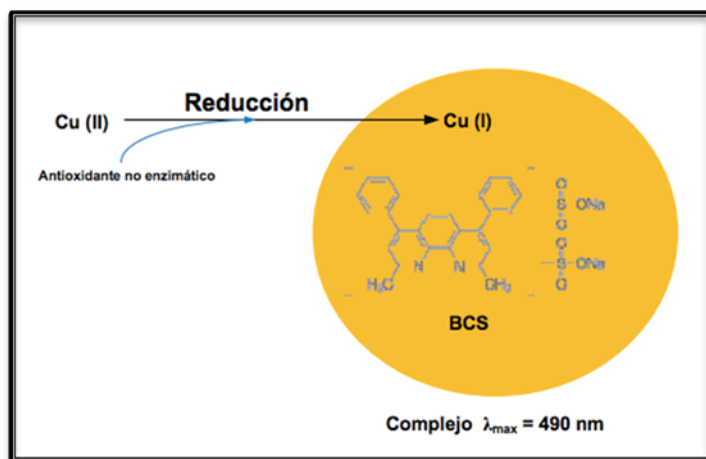
### 3.2.4. Método de estudio del estrés oxidativo

**a) Preparación del plasma.**- Las muestras de sangre se sometieron a centrifugación (900 g) durante 10 minutos a 4°C. El plasma obtenido se almacenó a -80°C en alícuotas de 200 µL hasta su posterior uso.

**b) Cuantificación de la capacidad antioxidante plasmática:**

- **Método CUPRAC-BCS.**- Existen diferentes métodos, basados en la reducción del cobre, que son aptos para medir la capacidad antioxidante total (TAC) de fluidos biológicos. Estos métodos difieren entre sí en el tipo de quelante utilizado para formar un complejo con el cobre monovalente que absorbe luz entre 450-490 nm. En el método CUPRAC-BCS, los antioxidantes no enzimáticos presentes en la muestra reducen el  $\text{Cu}^{2+}$  a  $\text{Cu}^{+}$ ; el cobre monovalente forma un complejo con la sal disódica del ácido batocuproinedisulfónico (BCS) que absorbe luz a 490 nm (Fig. 7). El protocolo experimental, descrito por Campos y col. (168), ha sido modificado con la dilución de la muestra de plasma directamente en tampón fosfato. La reacción se desarrolla en placa de 96 pocillos; en cada pocillo se mezclan 10 µL de plasma y 190 µL de tampón fosfato (10 mM, pH=7,4) conteniendo 0,25 mM de BCS. Tras un periodo de 10 s, se mide la absorbancia inicial ( $A_i$ ) del pocillo a 490 nm en un lector de placas. Posteriormente, se adiciona al pocillo 50 µL de solución acuosa de  $\text{CuSO}_4$  (0,5 mM) y se incuba la mezcla por un periodo adicional de 5 min a  $T^a$  ambiente y en oscuridad. Transcurrido ese periodo, se vuelve a medir la absorbancia final ( $A_f$ ) a 490 nm. Para el cálculo del valor TAC de

cada muestra se emplea el valor de la diferencia entre Af y Ai, así como la recta de regresión resultante de aplicar, el anterior protocolo, a concentraciones crecientes (0, 0,25, 0,50, 1, 1,5 y 2 mM) de un análogo de la vitamina E utilizado como referente de actividad antioxidante, el trolox (ácido-6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-carboxílico). El valor TAC de cada muestra de plasma fue expresado en mmoles de trolox/L utilizando la recta estándar de trolox.



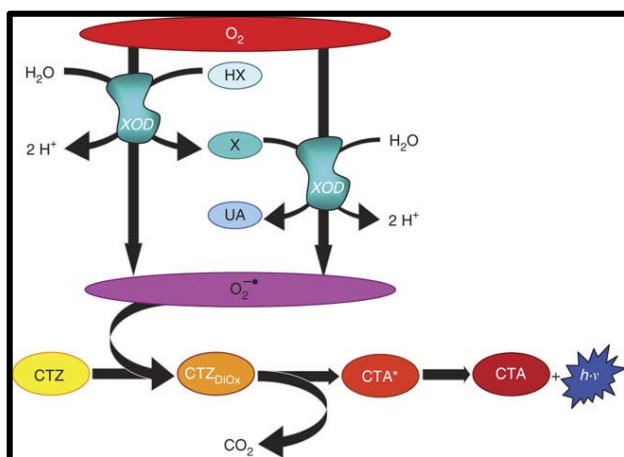
**Figura 7:** Esquema de la reacción base del método CUPRAC- BCS (Adaptado de Campos *et al.*, 2009).

- **Método SOSA** (acrónimo del inglés “Superoxide Anion Scavenging Activity”).- Este método se basa en la inhibición de la luminiscencia producida por el anión superóxido ( $\text{O}_2^-$ ) y por scavengers de alto peso molecular cuando la muestra a evaluar es previamente dializada  $> 10 \text{ kDa}$ . Un antioxidante natural, la coelenterazina (CTZ), es utilizado por su especificidad como sonda de detección del  $\text{O}_2^-$  en este método. Así, el  $\text{O}_2^-$  activa la CTZ y la convierte en su producto oxidado, coelenteramida (CTA), que emite luz azul (Fig. 8). Para producir *in situ* el  $\text{O}_2^-$  se emplea el sistema xantina oxidasa/hipoxantina (XO/HX). La enzima SOD se utiliza para realizar la recta de calibrado. El protocolo SOSA, descrito inicialmente por Saleh y Plieth (169), ha sido modificado posteriormente cambiando de orden de adición de los reactivos con objeto de hacer factible la detección de la bioluminiscencia en un lector de placas. Así, en primer lugar se adiciona la muestra/blanco/SOD seguida de la sonda luminiscente CTZ, la XO y, en último lugar, el sustrato HX. Tras dejar que la reacción transcurra a  $T^a$  ambiente durante 30 s exactos, se mide la señal luminiscente en un luminómetro de placa GloMax (Fig. 9). Tanto la

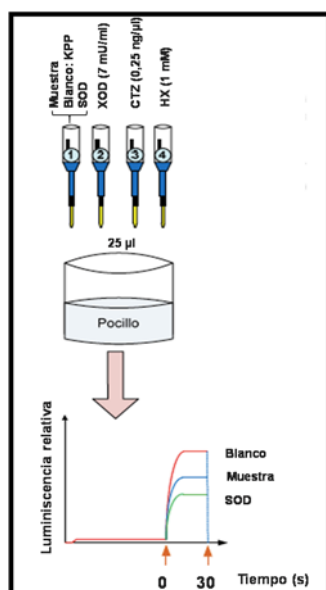
muestra, como la sonda luminiscente o la SOD fueron diluidas en una solución Krebs tamponada con fosfato 100 mM a pH=7,4 (KPP). Mientras que XO y HX fueron disueltas en la anterior solución a la que se añadió 0,1 mM EGTA + 0,4% v/v Tritón (KPET). Los valores de luminiscencia de las muestras/SOD se transformaron en los correspondientes valores de inhibición mediante la siguiente ecuación:

$$\text{Inhibición de luminiscencia} = 1 - (\text{luminiscencia}_{\text{muestra ó SOD}} / \text{luminiscencia}_{\text{blanco}})$$

En donde Luminiscencia<sub>blanco</sub> representa la luminiscencia en ausencia de SOD. El valor SOSA de la muestra se expresó en mU SOD/mg de proteína, valores ambos deducidos de la recta de calibrado de SOD (inhibición de luminiscencia *versus* log SOD) y del contenido de proteína de la muestra medido por el método de Bradford, respectivamente.



**Figura 8:** Esquema de la reacción luminiscente del método SOSA (*Adaptada de Saleh y Pliehl, 2010*). O<sub>2</sub><sup>-</sup>, anión superóxido. CTZ, coelenterazina. CT-A, coelenteramida. XOD, xantina oxidasa. UA= Ácido úrico.



**Figura 9:** Procedimiento del ensayo de SOSA (*Adaptado de Saleh y Pliehl, 2010*)

**c) Cuantificación de tioles totales en plasma:** Para este tipo de análisis se empleó el reactivo de Ellman [5,5-ditiobis (2-nitro ácido benzoico) o DNTB] utilizando placas de 96 pocillos. Los grupos tioles, presentes en las proteínas o en los compuestos de bajo peso molecular, reaccionan con el DTNB que es reducido a tiol ácido 5- tionitrobenzoico (TNB) de color amarillo que puede ser medido y cuantificado a 412 nm en un espectrofómeto UV/Vis. (170). El protocolo experimental comienza con la adición a los pocillos de 10  $\mu$ L de plasma o de diluciones crecientes (0,5; 0,4; 0,3; 0,2; 0,1 y 0 mM) de glutatión reducido (GSH) para confeccionar la curva estándar. Como control negativo se incluyó un pocillo conteniendo 10  $\mu$ L de plasma y 200  $\mu$ L de tampón fosfato (100 mM, pH=7.4), con el objeto de corregir la contribución de las muestras de plasma al valor final de la absorbancia. Todos los pocillos, tanto los correspondientes a las muestras de plasma como los de la curva estándar o del control negativo, se realizaron por duplicado. A continuación, utilizando una micropipeta multicanal, se adicionó 200  $\mu$ L de DNTB (0,5 mM en tampón fosfato) a cada pocillo conteniendo las muestras o el GSH, pero no a los controles negativos. Se agitó la placa, protegida de la luz, en un agitador 3D durante 1 minuto y, seguidamente, se incubó la mezcla a temperatura ambiente durante 30 minutos en oscuridad. Al cabo de este tiempo, fue leída la absorbancia a 412 nm en un lector de placas Synergy HT™. El nivel de tioles totales se expresó en mM GSH/mg de proteína, valor que fue calculado a partir de la recta de calibrado del GSH y del contenido de proteína del plasma, medido según el micro-método de Bradford.

**d) Determinación de la actividad catalasa en plasma:** La actividad catalasa fue cuantificada empleando un método fluorimétrico basado en la oxidación de la sonda Amplex Red (AR) en presencia de HRP y H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Así, en presencia de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, el AR (un compuesto no fluorescente) es convertido en resorufina (un producto fuertemente fluorescente) por la acción de la HRP. La catalasa cataliza la descomposición del H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> en H<sub>2</sub>O y, por tanto, reduce la oxidación de la sonda. El protocolo experimental se inició con la adición de 25  $\mu$ L de plasma diluido [o blanco o catalasa (0-0.4 U/mL)] a un volumen igual de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>; la mezcla se incubó durante 15 minutos a 37°C. Transcurrido ese periodo, se adicionó, con una micropipeta multicanal, 50  $\mu$ L del reactivo AR para medir la actividad catalasa (AR-CAT) a cada uno de los pocillos, incubando la mezcla durante 30 minutos a 37°C. La composición del reactivo AR-CAT aparece reflejada en la Tabla 12. Transcurrido

el periodo indicado, y tras agitar la placa  $\sim 3$  s, se procedió a la lectura de la señal de fluorescencia ( $\lambda_{\text{excitación}} = 530 \pm 25$  nm y  $\lambda_{\text{emisión}} = 590 \pm 35$  nm) en un lector de placas multiusos Synergy™ HT.

**Tabla 12.-** Composición del reactivo Amplex Red utilizado para medir la actividad catalasa (AR-CAT).

Stock de Amplex Red (10 mM disuelto en dimetilsulfóxido) . . . .	50 $\mu$ L
Stock de HRP (100 U/mL disuelto en agua) . . . . .	20 $\mu$ L
Tampón Tris-HCl (100 mM; pH 7,5) . . . . .	4930 $\mu$ L

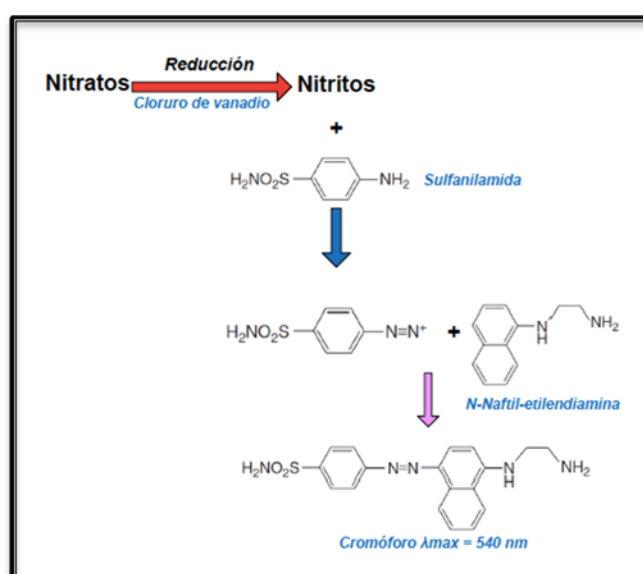
La actividad catalasa plasmática, expresada en U/mg proteína, fue calculada a partir de la recta de calibrado realizada con los pocillos a los que se añadió catalasa, como se ha descrito en el protocolo experimental. La recta estándar se obtuvo por análisis de regresión lineal de los datos de inhibición de la fluorescencia de acuerdo a la ecuación que se muestra a continuación *versus* la concentración de catalasa en U/mL.

$$\text{Inhibición de Fluorescencia} = 1 - (\text{Fluorescencia}_{\text{muestra o catalasa}} / \text{Fluorescencia}_{\text{blanco}})$$

En donde: *Fluorescencia<sub>blanco</sub>* es la fluorescencia ( $\lambda_{\text{excitación}} = 530 \pm 25$  nm y  $\lambda_{\text{emisión}} = 590 \pm 35$  nm) en ausencia de catalasa.

**e) Cuantificación de nitratos plasmáticos:** Se realizó mediante la reacción de Griess (Fig. 10), la cual se basa en la medida de los nitritos generados por la reducción de los nitratos en presencia de cloruro de vanadio saturado. En condiciones ácidas, los nitritos reaccionan con la sulfanilamida y producen el ión diazonium que, al reaccionar con la N-Naftil-etilendiamina, genera un compuesto azo-cromógeno que es monitorizado a 540 nm. Para la cuantificación de los niveles de nitratos plasmáticos se siguió el protocolo de Giustarini (171) y el de Miranda (172), con algunas modificaciones. El protocolo comenzó combinando 100  $\mu$ L de plasma o nitrato estándar (concentración de 0 a 100  $\mu$ M, para confeccionar la recta de calibrado) y 10  $\mu$ L de N-etilendiamina (150 mM) para eliminar

grupos tioles que puedan interferir con la reacción de Griess. Seguidamente, se adicionó a la mezcla anterior 110  $\mu\text{L}$  de ácido tricloroacético (20%, p/v) manteniendo todo en hielo durante 5 minutos para precipitar las proteínas plasmáticas. Tras centrifugar a 12.000 g a 4°C durante 5 minutos, se tomaron 50  $\mu\text{L}$  del sobrenadante que se mezclaron, en una placa de 96 pocillos, con 50  $\mu\text{L}$  cloruro de vanadio (saturado y disuelto en HCl, 1 M), 25  $\mu\text{L}$  sulfanilamida (2% p/v; disuelta en HCl al 5% v/v) y 25  $\mu\text{L}$  N-naftil-etilendiamina (0,1% p/v, disuelta en agua). La mezcla se incubó a 37°C durante 1 h y la absorbancia a 540 nm fue leída en un lector de placas. El contenido de nitratos plasmáticos se expresó en  $\mu\text{M}$  de nitratos estimados a partir de la recta de calibrado descrita en el protocolo experimental.



**Figura 10:** Esquema de la reacción de Griess para cuantificación de nitritos.

**f) Determinación del contenido de proteínas plasmáticas:** Se empleó el método de Bradford siguiendo el protocolo sugerido por el fabricante. De este modo, se hicieron reaccionar 10  $\mu\text{L}$  de la muestra diluida con 200  $\mu\text{L}$  del reactivo de Bradford (colorante de azul Coomassie, Bio-Rad, España) diluido 5 veces. Tras 5 minutos de reacción, se midió la absorbancia a 595 nm en un lector de placas (Synergy HT Multi-Mode Microplate Reader, Biotek, Rochester, VT, USA). La concentración de proteína ( $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ ) en la muestra se estimó a partir de la recta de calibración con concentraciones crecientes (rango 0,1-0,5  $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ ) de albumina de suero bovino (BSA).

### 3.2.5. Método de estudio de biomarcadores de disfunción endotelial

#### a) **Determinación de las concentraciones de ADMA y SDMA en plasma y ventrículo izquierdo y de DDAH en ventrículo izquierdo:**

Los niveles plasmáticos de ADMA y SDMA fueron estudiados en 5 animales de cada grupo de ratas no tratadas (WKY y SHR) y en 10 ratas hipertensas tratadas con esmolol (SHR-E). Una vez obtenidas las muestras de sangre, estas se centrifugaron a 900xg durante 10 minutos a 4°C para separar el plasma, que fue recogido y almacenado en alícuotas a – 80°C. También se determinó las concentraciones de ADMA y SDMA, así como actividad de DDAH, en el ventrículo izquierdo de 4 animales de cada grupo sin tratar (WKY y SHR) y de 6 ratas hipertensas tratadas con esmolol (SHR-E).

- **Determinación de ADMA y SDMA.**- se realizó con un nuevo método de cromatografía líquida utilizando un espectrómetro de masas cuadrupolar en tándem (LC-MS/MS) (173). Las muestras se analizaron en una placa de microfiltración de 0,20 µm de 96 pocillos. Se realizó la conversión a sus derivados de éster de butilo. Los resultados fueron estudiados con un Varian 1200L espectrómetro de masas triple cuadrupolo en el modo positivo de ionización por electrospray (ESI+).
- **Medida de la actividad DDAH y ADMA.**- Fue determinada en el ventrículo izquierdo de acuerdo al método descrito por Maas y cols (174). Para disminuir la interferencia del ADMA endógeno, las muestras fueron homogeneizadas en solución tampón PBS con un inhibidor de proteasas. El homogeneizado fue centrifugado a 12.000xg durante 5 minutos a 4°C. Se tomaron 50 µL del sobrenadante que fueron añadidos a 50 µL de la solución PBS conteniendo 20 µM del anticuerpo [<sup>2</sup>H<sub>6</sub>]. Tras un periodo de incubación de 60 minutos a 37°C, se midió el [<sup>2</sup>H<sub>6</sub>]-ADMA usando el LC-MS/MS.



### 3.2.6. Método estadístico

- a) Método estadístico del estudio experimental.**- Por razones propias del modelo experimental, se decidió incluir un total de 65 ratas en una proporción 1:2 control/problema y de esta manera se aseguró tener un mínimo de 21 ejemplares por grupo a estudiar.
- b) Estadística descriptiva.**- Para las variables cuantitativas continuas se calculó la media como medida de tendencia central, y el error estándar de la media como medida de dispersión.
- c) Estadística inferencial.**- En el caso de las variables continuas se analizó, en primer lugar, si la variable seguía una distribución normal (Kolmogorov-Smirnov). En caso afirmativo, se aplicó el análisis de varianza (ANOVA) y, en caso negativo, se procedió a la transformación de las variables para buscar la normalidad de las mismas. En aquellos supuestos donde no hubo distribución normal se utilizaron los test no-paramétricos. El ANOVA de medidas repetidas se aplicó para estudiar si existían diferencias significativas en los parámetros fisiológicos y de función vascular (curvas dosis-respuesta de ACh, 5-HT y NPS) intragrupo e intergrupo. El ANOVA seguido del test post-hoc de Bonferroni fue utilizado para estudiar si existían diferencias significativas entre los tres grupos de estudio en lo que respecta a los parámetros estructurales (microscopía óptica y microscopía confocal), de estrés oxidativo y de disfunción endotelial analizados. Para comparar la respuesta vasoconstrictora a la 5-HT de los segmentos de arteria coronaria descendente anterior entre los tres grupos de estudio, algunos resultados fueron expresados como área bajo la curva dosis-respuesta (AUC). Un valor de  $P < 0,05$  fue considerado estadísticamente significativo. En todos los casos, los valores para rechazar la hipótesis nula fueron de  $\alpha = 0,05$  y potencia  $(1-\beta) = 80\%$ . Todos los datos obtenidos fueron introducidos y analizados con el paquete estadístico SPSS 20.0 (IBM Corp, Armonk, New York, USA) para Windows y S-PLUS 6.1.

## ***4. RESULTADOS***

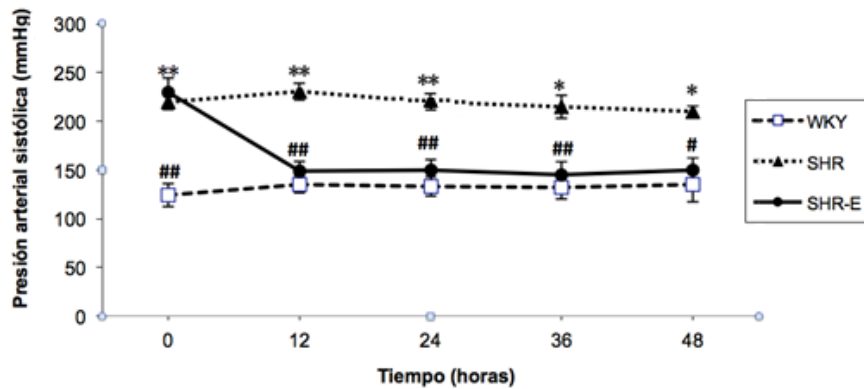
## 4.1. EFECTO DE ESMOLOL SOBRE PARÁMETROS FISIOLÓGICOS DE LA RATA

El valor medio de peso corporal de los animales pertenecientes a los tres grupos incluidos en el estudio aparece recogido en la Tabla 13. En ella, se puede apreciar cómo dicho valor es significativamente superior en ratas normotensas (WKY) que en SHR, independientemente que hayan sido tratadas con placebo (SHR) o con esmolol (SHR-E). No se encontraron diferencias significativas en cuanto a peso entre estos dos últimos grupos.

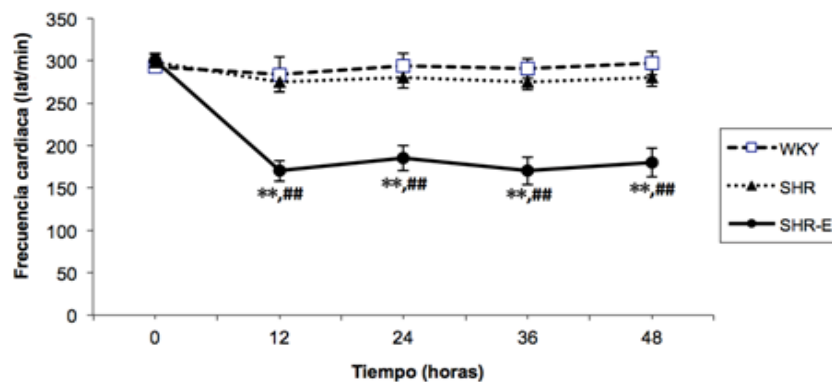
**Tabla 13.-** Peso de ratas WKY y SHR (tratadas con placebo) y SHR-E (tratadas con esmolol). En paréntesis, el número de animales pesados. Los valores representan la media  $\pm$  SEM; \*  $P < 0,05$  comparado con WKY.

	WKY (10)	SHR (10)	SHR-E (10)	Valor P ANOVA
Peso (g)	414,21 $\pm$ 17,02	382,15 $\pm$ 14,02 *	371,48 $\pm$ 15,24 *	0,031

Las ratas SHR de 14 meses de edad utilizadas en el presente estudio mostraban una elevación significativa de la presión arterial sistólica (PAS) respecto a las ratas WKY de la misma edad. Durante los cuatro momentos en los que se registró la PAS en SHR-E dentro del periodo de tratamiento con esmolol (12, 24, 36 y 48 h), el fármaco redujo significativamente la misma respecto a su grupo de referencia SHR. De hecho, la PAS en SHR-E alcanzó valores similares a los de las ratas WKY (Fig. 11). Por otra parte, mientras que las ratas SHR y WKY presentaban valores similares de frecuencia cardíaca (FC) en los cuatro tiempos de registro indicados arriba, las tratadas con esmolol mostraron una FC significativamente inferior a la observada en los otros dos grupos no tratados (Fig. 12).



**Figura 11.-** Presión arterial sistólica en ratas WKY y SHR (ambas tratadas con placebo) y en SHR-E (tratadas con esmolol). Los datos, obtenidos en los tiempos indicados en el eje de abscisas tras iniciar el tratamiento con esmolol, representan la media  $\pm$  SEM de los valores obtenidos en 10 animales por cada grupo. \* $p < 0,05$  y \*\* $p < 0,01$  con respecto a ratas WKY; # $p < 0,05$  y ## $p < 0,01$  con respecto a SHR.



**Figura 12.-** Frecuencia cardíaca en ratas WKY y SHR (tratadas con placebo) y ratas SHR-E (tratadas con esmolol). Los datos, obtenidos en los tiempos indicados en el eje de abscisas tras iniciar el tratamiento con esmolol, representan la media  $\pm$  SEM de 10 animales por grupo. \* $p < 0,05$  y \*\* $p < 0,01$  con respecto a ratas WKY; # $p < 0,05$  y ## $p < 0,01$  con respecto a SHR.

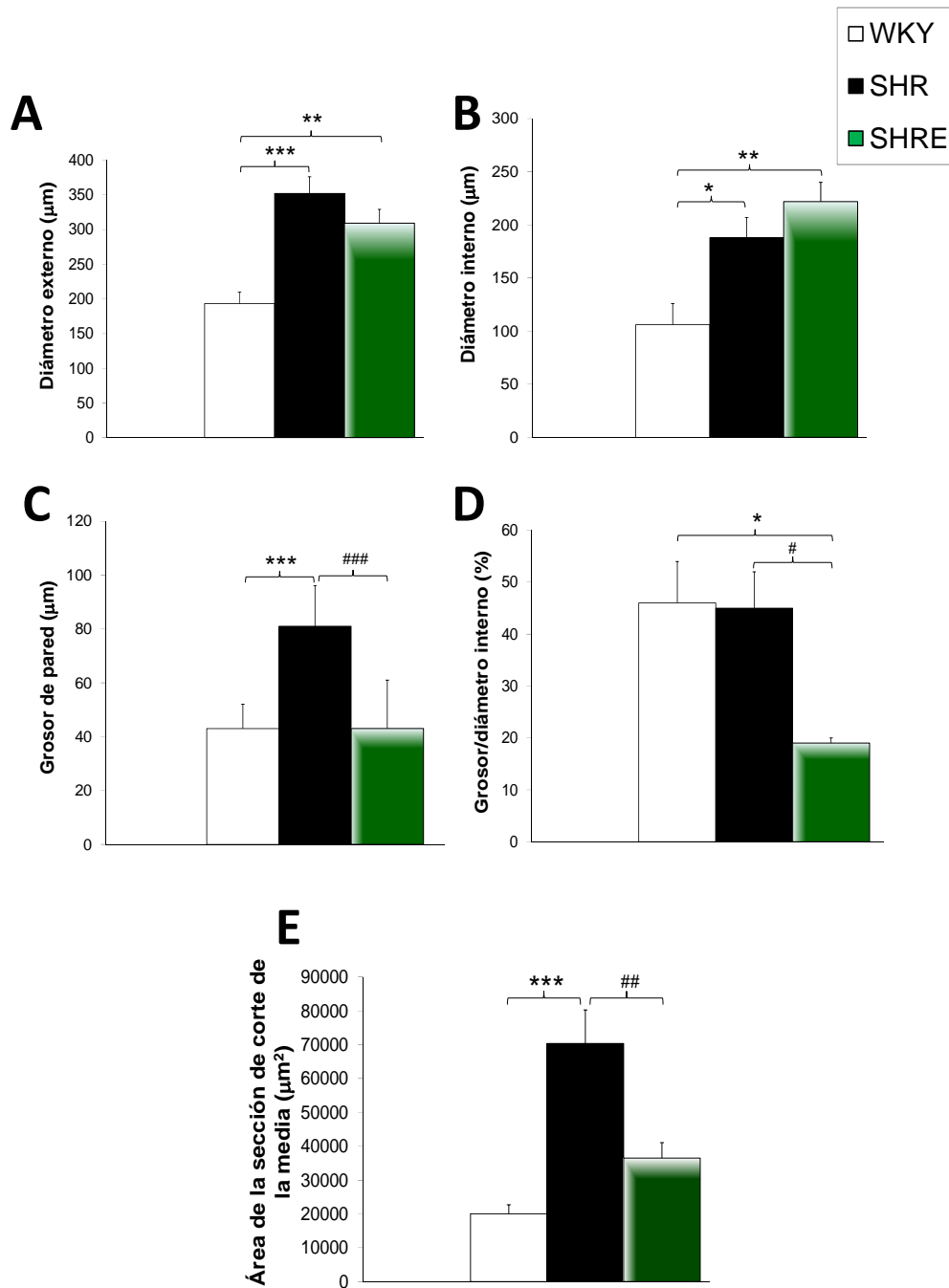
## **4.2. EFECTO DE ESMOLOL SOBRE PARÁMETROS ESTRUCTURALES DE LA ARTERIA CORONARIA**

### **4.2.1. Estructura de la arteria intramiocárdica**

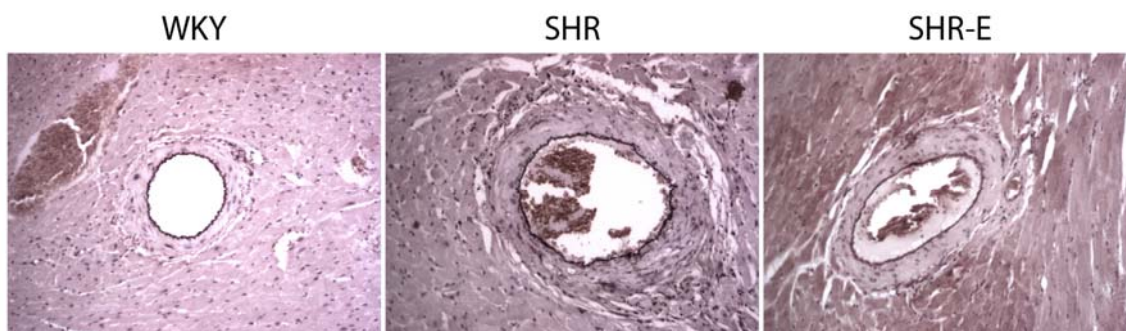
Los resultados del estudio histológico de la estructura de la arteria intramiocárdica (arteria marginal) del ventrículo izquierdo aparecen representados en las Figuras 13 y 14. En la primera de estas figuras se observa cómo los Diámetros Externo (DE) e Interno (DI) de la arteria fueron significativamente menores en las ratas WKY que en las SHR, tanto tratadas como sin tratar con esmolol (Figs. 13A y 13B). De hecho, no se encontraron diferencias significativas en relación al DE y DI entre estos dos últimos grupos. Por otra parte, las ratas WKY presentaron un grosor de pared arterial (GP) significativamente menor que el observado en las SHR no tratadas (Fig. 13C). En contraste, el tratamiento con esmolol disminuyó, de manera significativa, el GP respecto al grupo de referencia SHR. Más aún, el valor de GP en SHR-E fue totalmente superponible al obtenido en ratas normotensas WKY.

La Figura 13D muestra la relación GP/DI de la arteria intramiocárdica en los tres grupos de ratas; el valor obtenido fue similar en ratas WKY y SHR, reduciéndose significativamente en las ratas tratadas con esmolol respecto a los otros dos grupos. Al analizar el área de la sección de corte de la media de la arteria (MCSA) se observó que dicho valor era significativamente mayor en las SHR no tratadas que en las ratas WKY o tratadas con esmolol (Fig. 13E). De hecho, no se encontraron diferencias significativas entre estos dos últimos grupos.

La figura 14 muestra cortes histológicos representativos de la arteria intramiocárdica del ventrículo izquierdo (arteria marginal) preparados mediante tinción de orceína y visualizados por microscopía óptica. Los cortes reflejan las diferencias reseñadas en el apartado anterior de resultados. En los cortes mostrados se observan dos datos relevantes: 1) reducción del GP en la rata SHR-E respecto a la SHR, llegando incluso a asemejarse el GP de la primera al observado en la rata WKY; 2) aumento del DI en la rata SHR-E respecto a la WKY.



**Figura 13.-** Análisis histológico de diversos parámetros estructurales de la arteria intramiocárdica (arteria marginal) del ventrículo izquierdo de rata. A) Diámetro externo, B) Diámetro interno, C) Grosor de pared, D) Relación Grosor pared/Diámetro interno y E) Área de la sección de corte arterial. Los parámetros fueron analizados en tres grupos de ratas: normotensas WKY, hipertensas no tratadas (SHR) e hipertensas tratadas con esmolol (SHR-E). Los datos representan la media  $\pm$  SEM de 5 animales por grupo. \* $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,01$  y \*\*\* $p < 0,001$  respecto a ratas WKY; # $p < 0,05$ , ## $p < 0,01$  y ### $p < 0,001$  respecto a SHR.



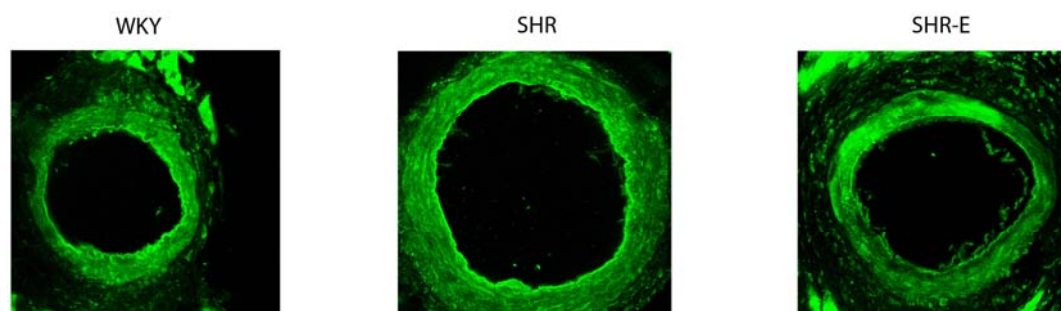
**Figura 14.-** Cortes histológicos representativos de la arteria intramiocárdica del ventrículo izquierdo de una rata normotensa (WKY) y de dos ratas hipertensas, una de ellas no tratada (SHR) y la otra tratada con esmolol (SHR-E). Las preparaciones fueron teñidas con orceína y las imágenes captadas por microscopía óptica (10x).

#### 4.2.2. Morfología de la arteria coronaria descendente anterior

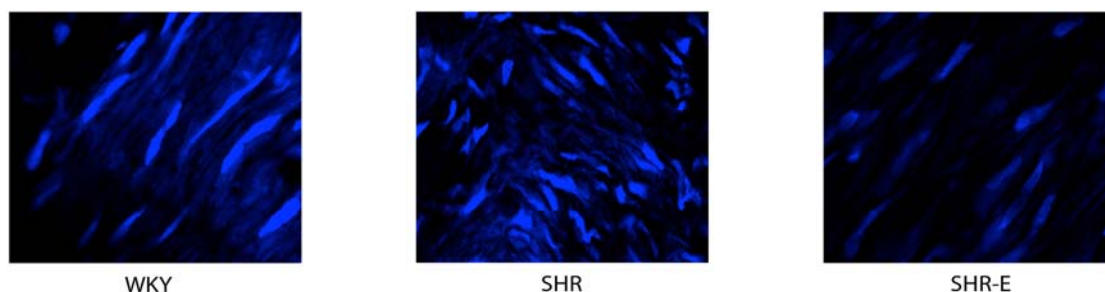
Las Figuras 15 y 16 muestran imágenes confocales típicas de cortes trasversales y longitudinales de la arteria coronaria descendente anterior de las ratas. Estas imágenes sirvieron para analizar las diferencias morfológicas de la pared arterial en ratas WKY, SHR y SHR-E. Los cortes trasversales de la arteria, representados en la Fig. 15, permitieron visualizar un grosor de la capa media arterial significativamente mayor en las SHR no tratadas que en las ratas WKY. Adicionalmente, se observó que el tratamiento con esmolol (SHR-E) redujo significativamente el grosor de la capa media arterial encontrado en las ratas SHR. De hecho, la reducción fue de tal magnitud que no se encontró diferencias estadísticamente significativas en dicho parámetro entre los grupos WKY y SHR-E. Los valores medios La Figura 17A refleja la media  $\pm$  SEM del grosor de la capa media arterial en cada uno de los tres grupos de ratas, así como el número de animales incluidos en cada grupo para este estudio.

La Figura 16 muestra imágenes confocales representativas de las proyecciones de los núcleos celulares presentes en la capa media de la arteria coronaria descendente anterior de ratas WKY, SHR y SHR-E. Estas imágenes se obtuvieron a partir de cortes longitudinales del segmento arterial que fueron teñidos con el colorante nuclear 4'-6-diamino-2-fenilindol (DAPI). Tras el análisis de imágenes consecutivas correspondientes a planos contiguos (Stacks) de la capa media se pudo determinar el número de células existentes en dicha capa arterial. La Figura 17B muestra el valor medio  $\pm$  SEM de este recuento celular obtenido en cada grupo de rata, así como el número de animales utilizados en cada grupo. En dicha figura, se aprecia que las ratas WKY tenían un número de células en la capa media significativamente menor que el encontrado en las SHR no tratadas. Así mismo, el tratamiento con esmolol redujo significativamente el recuento

celular hasta valores indistinguibles de los observados en ratas normotensas. Por último, en relación con otro de los parámetros analizados en la capa media arterial, la densidad celular, no se apreciaron diferencias entre los tres grupos de ratas de estudio (Fig. 17C).

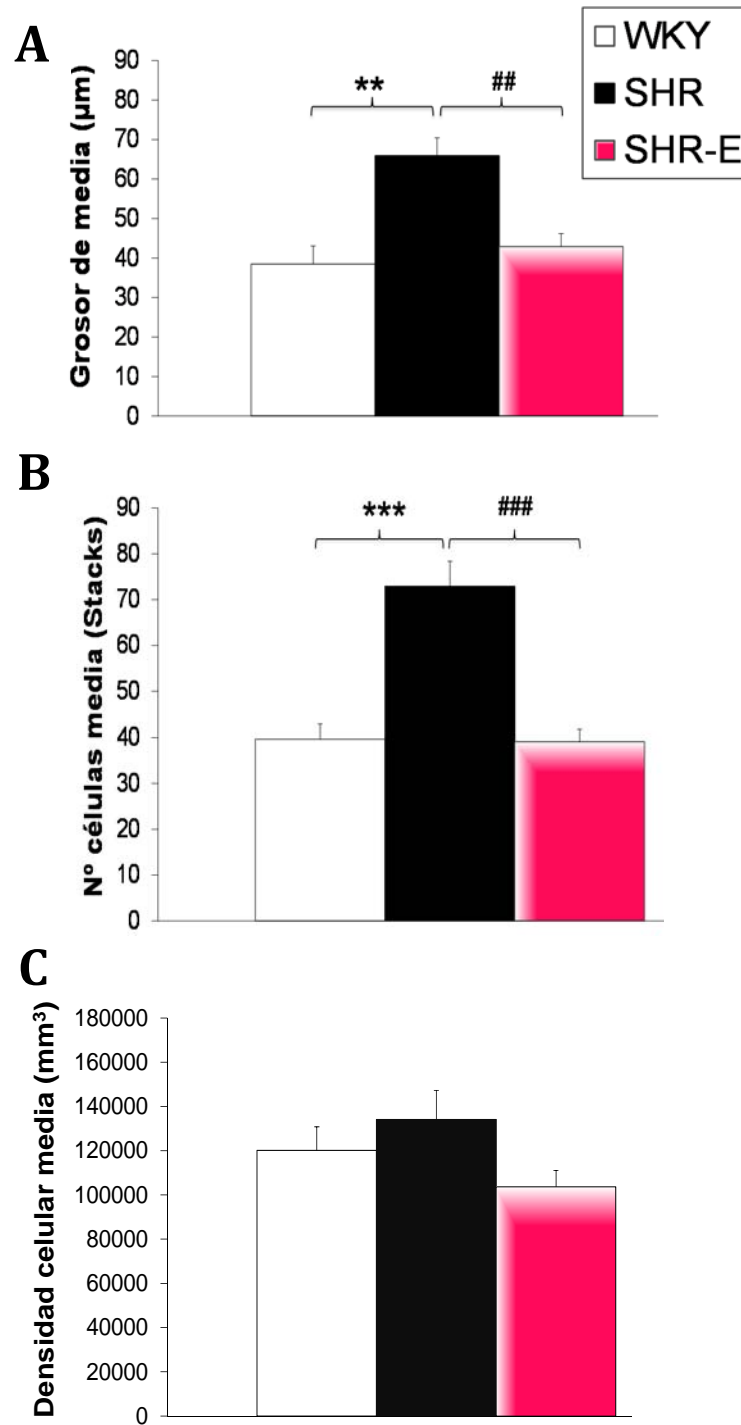


**Figura 15.-** Imágenes confocales representativas de 3 cortes transversales de arteria coronaria descendente anterior pertenecientes a una rata normotensa (WKY) y dos ratas hipertensas, una no tratada (SHR) y otra tratada con esmolol (SHR-E). La capa media se visualizó de forma directa merced a su autofluorescencia (verde) utilizando un objetivo 20x y zoom de 2. Se observa como el grosor de dicha capa es significativamente mayor en la SHR que en la rata WKY o SHR-E.



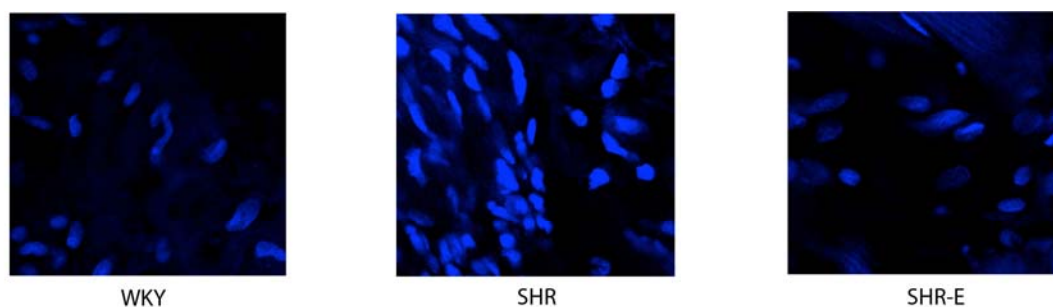
**Figura 16.-** Imágenes confocales representativas de las proyecciones de núcleos celulares presentes en cortes longitudinales de la capa media de la arteria coronaria descendente anterior. Las arterias pertenecen a una rata normotensa (WKY) y a dos ratas hipertensas, una no tratada (SHR) y otra tratada con esmolol (SHR-E). La sección longitudinal fue montada en el porta con la capa endotelial hacia arriba (para visualizar la capa media). Los núcleos se visualizaron mediante tinción con DAPI (azul) utilizando un objetivo 20x y zoom de 8. Nótese la disminución del número de núcleos (y, por tanto, de células) en la capa media de las ratas WKY y SHR-E con respecto a las SHR.





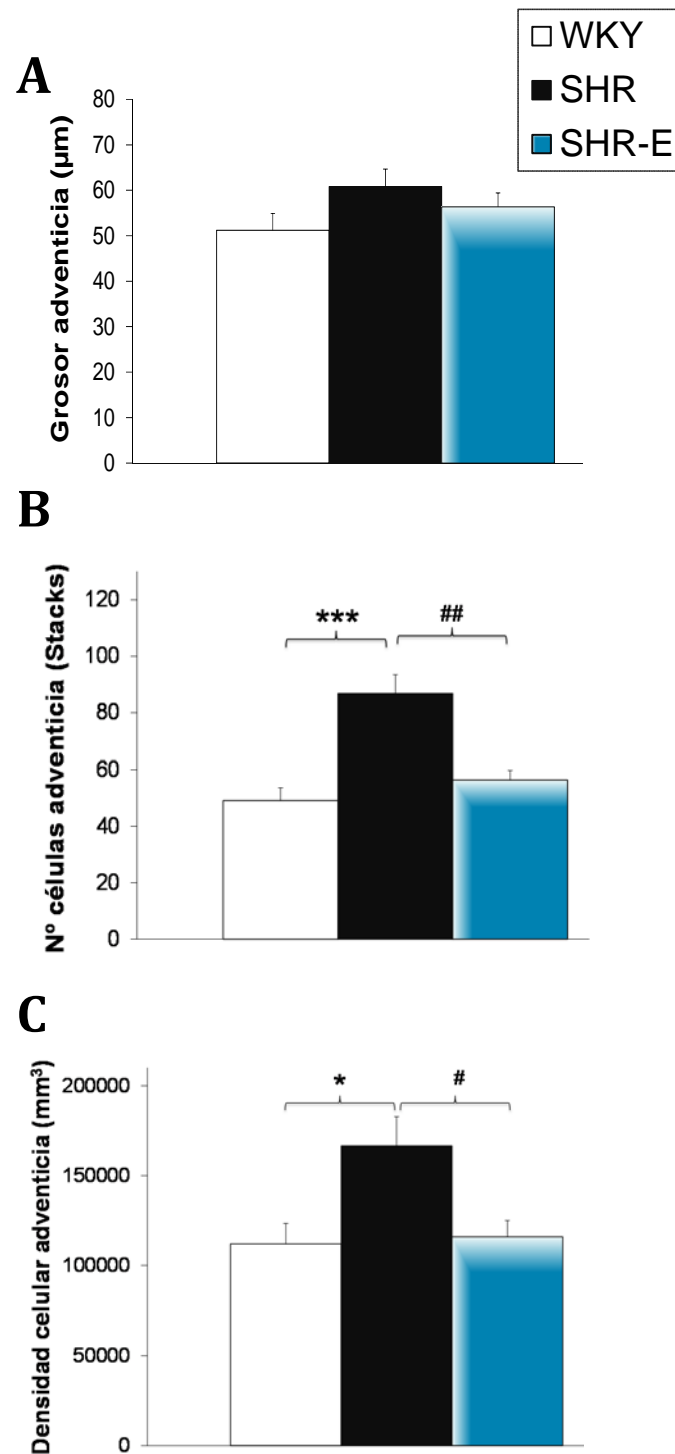
**Figura 17.-** Analisis de diversos parámetros morfológicos de la capa media de la arteria coronaria descendente anterior de rata realizado por microscopía confocal. A) Grosor de pared; B) Número de células; y C) Densidad celular. Los parámetros fueron analizados en el grupo de ratas normotensas (WKY, n=5), hipertensas sin tratar (SHR, n=5) e hipertensas tratadas con esmolol (SHR-E, n=5). Los valores representados corresponden a la media  $\pm$  SEM obtenida en cada uno de los grupos. \*\* $p < 0,01$  y \*\*\* $p < 0,001$  comparados con ratas WKY; ## $p < 0,01$  y ### $p < 0,001$  comparados con ratas SHR.

El estudio de los parámetros morfológicos de la capa media de la arteria coronaria descendente anterior en los tres grupos de ratas fue completado con el análisis de los mismos parámetros en la capa adventicia. La figura 18 muestra las imágenes confocales de los núcleos presentes en esta capa obtenidas en tres ratas, cada una de ellas representativa de uno de los grupos de estudio.



**Figura 18.-** Imágenes confocales representativas de las proyecciones de los núcleos celulares presentes en cortes longitudinales de la capa adventicia de la arteria coronaria descendente anterior. Las arterias pertenecen a una rata normotensa (WKY) y a dos ratas hipertensas, una no tratada (SHR) y otra tratada con esmolol (SHR-E). La sección longitudinal fue montada sobre porta con la adventicia hacia arriba (para visualizar esta capa). Los núcleos se visualizaron mediante tinción con DAPI (azul) utilizando un objetivo 20x y zoom de 8.

El análisis morfométrico de la adventicia no muestra diferencias, estadísticamente significativas, entre los tres grupos de estudio en lo que respecta al grosor de esta capa (Fig. 19A). Sin embargo, el número de células en la adventicia es significativamente menor en ratas WKY que en SHR no tratadas (Fig. 19B). La misma figura muestra también que el tratamiento con esmolol reduce, de forma significativa, el número de células en adventicia en relación a las SHR no tratadas; la reducción fue tal que no se encontraron diferencias en este parámetro entre las SHR-E y las ratas WKY. Finalmente, se observa que la densidad celular en la adventicia es significativamente menor en ratas WKY que en SHR y que, nuevamente, el esmolol reduce la densidad celular en esta capa hasta valores similares a los hallados en ratas WKY (Fig. 19C).



**Figura 19.-** Análisis de diversos parámetros morfológicos de la capa adventicia de arteria coronaria descendente anterior de rata realizado por microscopía confocal. A) Grosor de pared; B) Número de células; y C) Densidad celular. Los parámetros fueron analizados en ratas normotensas (WKY,  $n=5$ ), hipertensas no tratadas (SHR,  $n=5$ ), e hipertensas tratadas con esmolol (SHR-E,  $n=5$ ). Los valores representan la media  $\pm$  SEM de los animales de cada grupo. \* $p < 0,05$  y \*\*\* $p < 0,001$  comparando SHR con WKY. # $p < 0,05$  y ## $p < 0,01$  comparando SHR-E con SHR.

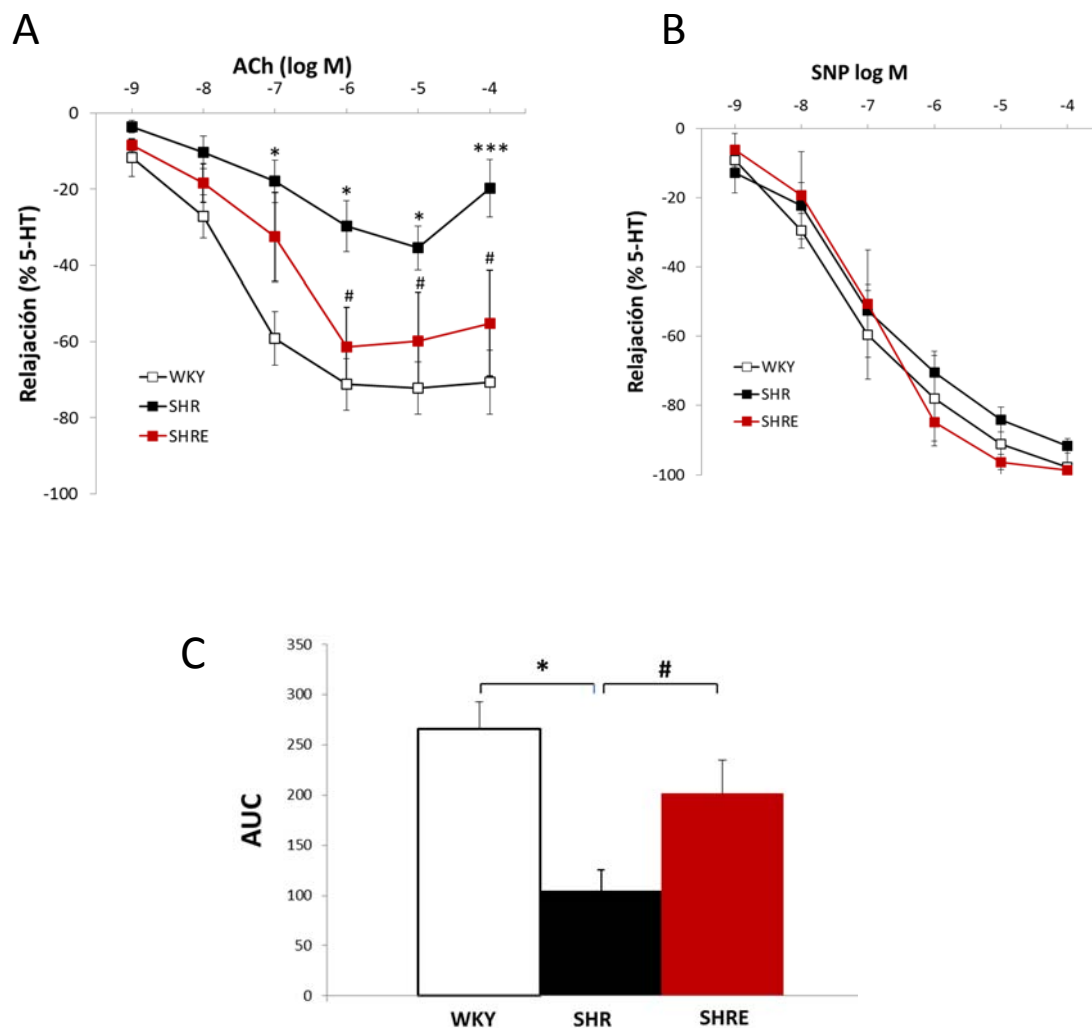
### **4.3. EFECTO DEL ESMOLOL SOBRE LA REACTIVIDAD VASCULAR DE LA ARTERIA CORONARIA**

El estudio funcional de la arteria coronaria descendente anterior, tanto en lo que afecta a su capacidad vasodilatadora como vasoconstrictora en respuesta a distintos fármacos, se llevó a cabo utilizando un miógrafo de alambre, tal como se especifica en el apartado correspondiente de *Material y Métodos*.

#### **4.3.1. Respuesta vasodilatadora de la arteria coronaria**

Utilizando segmentos de arteria coronaria de rata precontraídos con 5-hidroxitriptamina (5-HT), en estos experimentos se analizó la vasodilatación endotelio-dependiente y endotelio-independiente inducida por acetilcolina (ACh) o nitroprusiato (NPS), respectivamente. Los segmentos arteriales de las ratas WKY y SHR-E mostraron una vasodilatación, dosis-dependiente, en respuesta a concentraciones crecientes de ACh ( $10^{-7}$  a  $10^{-4}$  mol/l). Por el contrario, las mismas concentraciones de ACh produjeron un efecto dual en arterias de ratas SHR; vasodilatación a concentraciones bajas ( $10^{-9}$  a  $10^{-5}$  mol/l) y vasoconstricción a concentraciones altas ( $10^{-4}$  mol/l) (Fig. 20A). Adicionalmente, los resultados de la misma figura muestran que la vasodilatación inducida por las concentraciones más bajas de ACh fue significativamente menor en SHR que en ratas WKY. Por su parte, los animales tratados con esmolol mostraban una mejora significativa de la respuesta vasodilatadora mediada por ACh a la vez que no presentaban el efecto vasoconstrictor inducido por altas concentraciones de ACh ( $10^{-4}$  mol/l). El área bajo la curva (AUC) vasodilatación-respuesta mediada por ACh fue significativamente mayor en las ratas WKY que en las SHR sin tratar ( $265,9 \pm 27$  vs  $97,5 \pm 21$ ;  $p < 0,0002$ ), así como en las SHR-E respecto a las SHR ( $201,2 \pm 33$  vs.  $97,5 \pm 21$ ,  $p = 0,027$ ) (Fig. 20C). No se observaron diferencias estadísticamente significativas en el AUC entre las ratas SHR-E y WKY.

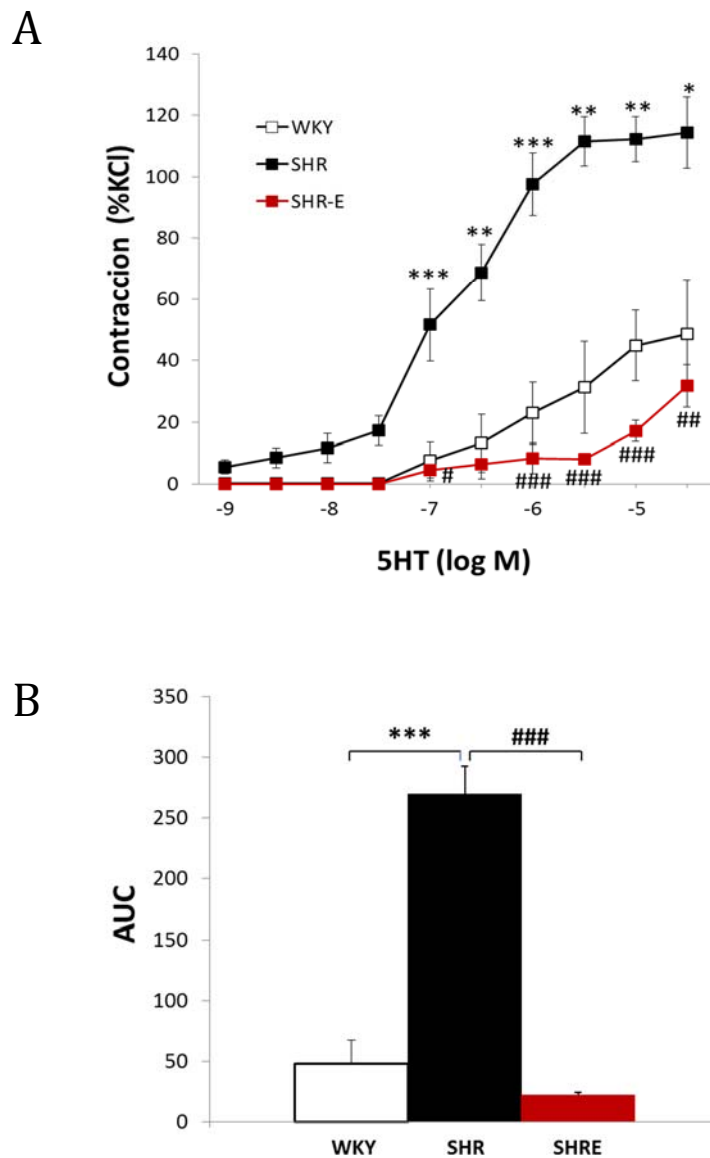
Seguidamente, se procedió a analizar la respuesta vasodilatadora endotelio-independiente mediada por concentraciones crecientes de NPS ( $10^{-9}$  a  $10^{-4}$  mol/l) en las mismas condiciones experimentales descritas arriba (Fig. 20B). No se encontraron diferencias significativas en este tipo de respuesta vasodilatadora entre los tres grupos de ratas incluidas en el estudio ( $AUC_{WKY} = 292,9 \pm 34$ ;  $AUC_{SHR} = 253,2 \pm 19$ ;  $AUC_{SHR-E} = 307,2 \pm 34$ ). La máxima respuesta vasodilatadora inducida por NPS fue:  $97,7 \pm 1$  % en WKY;  $91,4 \pm 2$  % en SHR y  $98,6 \pm 1$  % en SHR-E.



**Figura 20.-** Respuesta vasodilatadora endotelio-dependiente y endotelio-independiente en arteria coronaria descendente anterior de ratas WKY, SHR y SHR tratadas con esmolol (SHR-E). A y B) vasodilatación inducida por concentraciones crecientes de acetilcolina o nitroprusiato, respectivamente. La respuesta vasodilatadora se expresó como porcentaje de relajación de los segmentos arteriales precontraídos con 5-hidroxitriptamina (5-HT,  $3 \times 10^{-7}$  mol/l). C) Área bajo la curva (AUC) concentración-respuesta de ACh en cada grupo de ratas. Los datos representan media  $\pm$  SEM de 6 animales por grupo. \*\* $p < 0,01$  y \*\*\* $p < 0,001$  comparando con ratas WKY; # $p < 0,05$  comparando con ratas SHR.

### 4.3.2. Respuesta vasoconstrictora de la arteria coronaria

La respuesta vasoconstrictora de la arteria coronaria inducida por concentraciones crecientes de 5-HT ( $10^{-7}$ -  $3 \times 10^{-5}$  mol/l) fue significativamente mayor en SHR no tratadas que en ratas WKY (Fig. 21A).



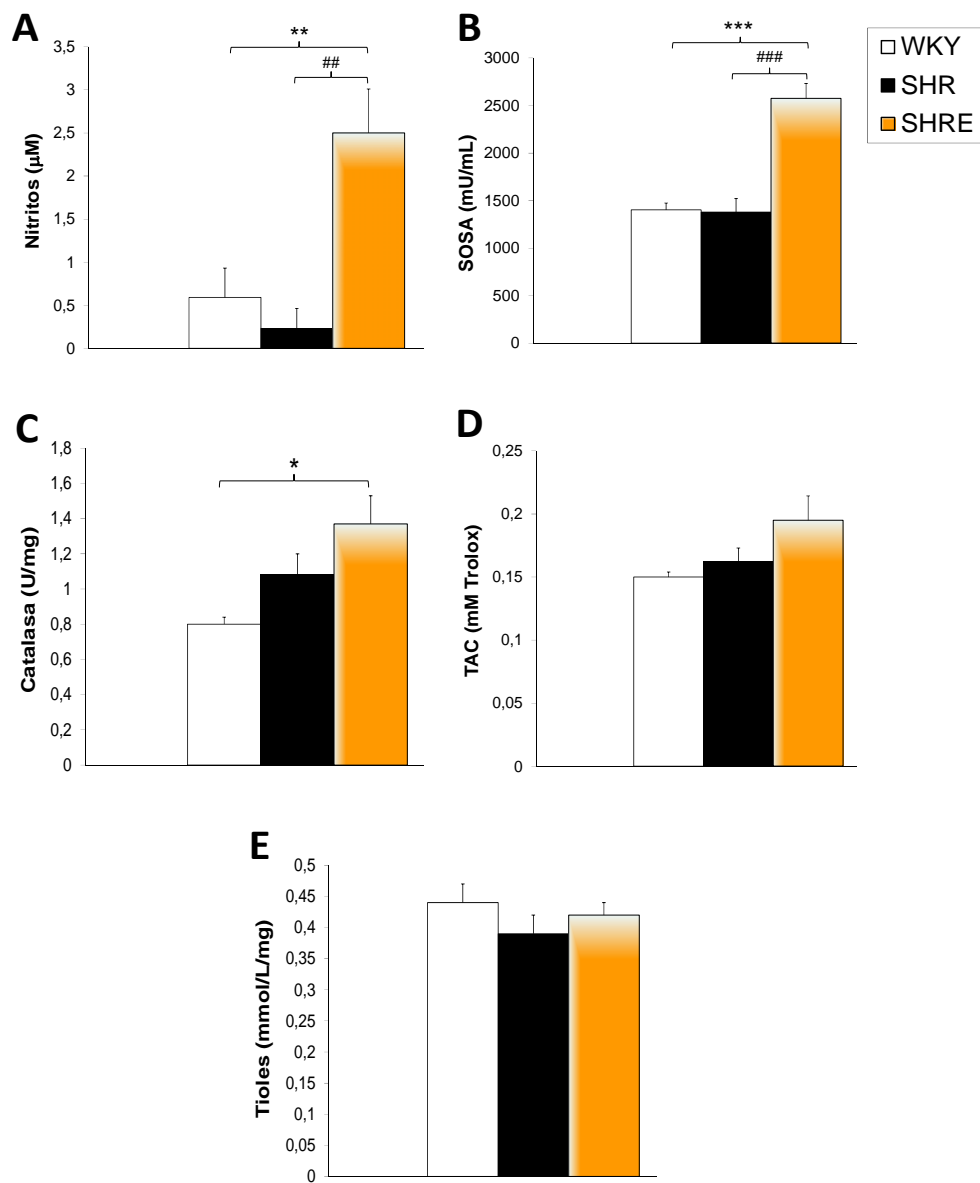
**Figura 21.-** A) Respuesta vasoconstrictora inducida por 5-hidroxitriptamina (5-HT) en arteria coronaria descendente anterior de ratas WKY, SHR y SHR tratadas con esmolol (SHR-E). Se utilizaron concentraciones crecientes de 5-HT (rango de  $10^{-9}$ -  $3 \times 10^{-5}$  mol/l); la vasoconstricción inducida por cada concentración de 5-HT fue expresada como porcentaje de la respuesta máxima de la arteria ante un pulso con alto  $K^+$ -KHS. Los valores representan media  $\pm$  SEM de 5 ratas por grupo.  $*p < 0,05$ ;  $**p < 0,01$  y  $***p < 0,001$  comparando WKY *vs.* SHR.  $\#p < 0,05$ ;  $\##p < 0,01$  y  $\###p < 0,001$  comparando SHR-E *vs.* SHR. B) Área bajo la curva (AUC) concentración-respuesta de 5-HT en los tres grupos experimentales.  $***p < 0,00001$  WKY *vs.* SHR;  $\###p < 0,00003$  SHR *vs.* SHRE.

Los resultados de la misma figura también muestran que el tratamiento con esmolol produjo una disminución muy significativa de la respuesta contráctil inducida por concentraciones medias-altas de 5-HT ( $10^{-7}$ -  $3 \times 10^{-5}$  mol/L) con respecto a ratas SHR. De hecho, la respuesta vasoconstrictora mediada por 5-HT en ratas SHR-E fue indistinguible de la observada en ratas WKY.

Finalmente el AUC, reflejo de la capacidad vasoconstrictora de 5-HT, fue significativamente mayor en SHR sin tratar ( $269,36 \pm 23$ ) que en ratas WKY ( $47,99 \pm 19$ ;  $p = 0,00001$ ) o ratas SHR-E ( $22,14 \pm 1$ ;  $p = 0,00003$ ). No se encontraron diferencias estadísticamente significativas en el AUC entre las ratas WKY y SHR-E (Fig 21B).

#### **4.4. EFECTO DEL ESMOLOL SOBRE BIOMARCADORES PLASMÁTICOS DE ESTRÉS OXIDATIVO**

La Figura 22 muestra los resultados obtenidos tras realizar la determinación de diversos biomarcadores plasmáticos de estrés oxidativo en los tres grupos de ratas objeto de estudio. No se observaron diferencias significativas en los niveles plasmáticos de nitritos entre ratas WKY y SHR sin tratar, pero sí las hubo entre estos dos grupos y el grupo tratado con esmolol que mostró una elevación significativa de estos niveles (Fig. 22A). Los tres grupos de ratas se comportaron de manera similar en lo que respecta al valor SOSA (relacionado con la actividad superóxido dismutasa) o a los niveles plasmáticos de catalasa ya que no se encontraron diferencias significativas entre las ratas WKY y SHR, pero sí se apreció un aumento significativo en los niveles de estas enzimas en las SHR-E respecto a los otros dos grupos de ratas (Figs. 22B y 22C). Por otra parte, la determinación de la capacidad antioxidante total (TAC) y de los tioles en plasma no arrojó ninguna diferencia significativa entre los tres grupos de estudio (Figs. 22D y 22E).



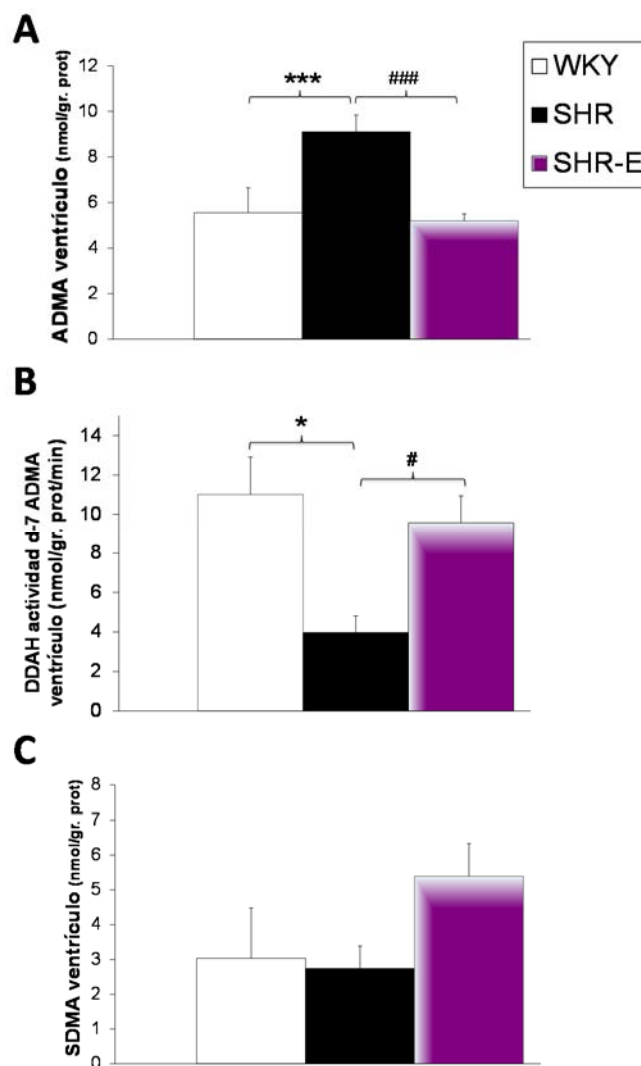
**Figura 22.-** Determinación de biomarcadores de estrés oxidativo en plasma: A) Nitritos, B) Actividad superóxido dismutasa (SOSA), C) Catalasa, D) Capacidad antioxidante total (TAC), y E) Tioles. Estos biomarcadores fueron determinados en ratas WKY, SHR y SHR tratadas con esmolol (SHR-E). Los valores representan media  $\pm$  SEM de 6 ratas por grupo. \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$  y \*\*\* $p < 0,001$  comparando con ratas WKY. ## $p < 0,01$  y ### $p < 0,001$  comparando con SHR.



## 4.5. EFECTO DEL ESMOLOL SOBRE DIVERSOS BIOMARCADORES DE DISFUNCIÓN ENDOTELIAL

### 4.5.1 Estudio en el ventrículo izquierdo

La figura 23 muestra los resultados de la determinación de diversos biomarcadores de disfunción endotelial en ventrículo izquierdo de ratas pertenecientes a los tres grupos incluidos en el estudio. Según se desprende de los datos obtenidos, las ratas SHR sin tratar mostraban un aumento significativo de la concentración de dimetilarginina asimétrica (ADMA) y una disminución significativa de la actividad de la dimetilamino hidrolasa (DDAH), con respecto a los valores obtenidos en ratas WKY (paneles A y B).

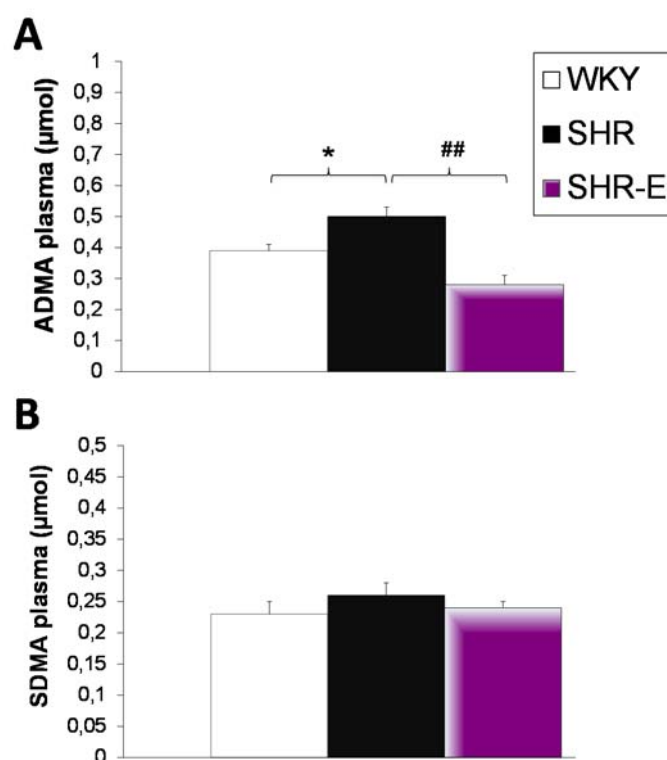


**Figura 23.-** Estudio de biomarcadores de disfunción endotelial en ventrículo izquierdo de ratas WKY (n=4), SHR (n=4) y SHR-E (n=6). A) dimetilarginina asimétrica (ADMA); B) dimetilarginina dimetilamino-hidrolasa (DDAH); y C) dimetilarginina simétrica (SDMA). Los datos representan media  $\pm$  SEM del conjunto de ratas de cada grupo. \* $p < 0,05$  comparando con ratas WKY. # $p < 0,05$  y ### $p < 0,001$  comparando con SHR.

El tratamiento con esmolol normalizó los valores de ambos biomarcadores, no encontrándose diferencias significativas de estos valores entre las SHR-E y las ratas WKY. Adicionalmente, no se encontraron diferencias significativas respecto a la concentración de dimetilarginina simétrica (SDMA) en ventrículo izquierdo entre los tres grupos de estudio (panel C).

## 4.5.2 Estudio en plasma

La determinación de las concentraciones de los biomarcadores descritos anteriormente en el plasma de ratas pertenecientes a los tres grupos de estudio arrojó los resultados recogidos en la figura 23. En ella se aprecia un aumento significativo de los niveles plasmáticos de ADMA en SHR sin tratar respecto a las ratas WKY y como dichos niveles se normalizan en SHR-E hasta alcanzar valores similares a los obtenidos en las ratas normotensas (panel A). No se encontraron diferencias significativas en lo que respecta a la concentración plasmática de SDMA entre los tres grupos de ratas (panel B).



**Figura 24.-** Valores plasmáticos de diversos biomarcadores de disfunción endotelial determinados en ratas WKY (n=5), SHR (n=5) y SHR-E (n=10). A) dimetilarginina asimétrica (ADMA); B) dimetilarginina simétrica (SDMA). Los valores representan la media  $\pm$  SEM del conjunto de ratas de cada grupo. \* $p < 0,05$  comparando con WKY; ## $p < 0,01$  comparando con SHR.

## ***5. DISCUSIÓN***

El trabajo experimental desarrollado en esta Tesis demuestra, por primera vez, que el tratamiento con el  $\beta$ -bloqueante cardiosselectivo esmolol produce, de manera precoz, una regresión del remodelado arterial coronario secundario a la hipertensión arterial. Adicionalmente, nuestros resultados revelan algunos de los mecanismos fisiopatológicos que podrían subyacer en el anterior efecto del fármaco. Como modelo experimental de remodelado arterial coronario se han utilizado ratas espontáneamente hipertensas (SHR), tratadas o no con el  $\beta$ -bloqueante, así como ratas normotensas Wistar Kyoto (WKY) como grupo control.

La SHR constituye un modelo experimental bien establecido y ampliamente utilizado para estudiar la hipertensión arterial primaria con hipertrofia cardíaca asociada. A los 14 meses de edad, esta rata ya presenta hipertrofia compensada del ventrículo izquierdo (175) acompañada de alteraciones funcionales y estructurales de las arterias coronarias (176). Previamente a esta Tesis, nuestro grupo de investigación había demostrado una regresión precoz de la HVI en la SHR tras un tratamiento breve (48 h) con esmolol (15). Este resultado tan sorprendente nos incitó a diseñar el presente estudio con el fin de evaluar si el anterior  $\beta$ -bloqueante producía un efecto similar sobre el remodelado de las arterias coronarias en el mismo modelo experimental. Para ello, se realizaron experimentos encaminados a detectar los cambios producidos en el grupo de ratas hipertensas tratadas con esmolol (SHR-E) respecto a los otros dos grupos de animales no tratados (WKY y SHR) en relación a: 1) la estructura y función de las arterias coronarias; y 2) diversos biomarcadores de estrés oxidativo y disfunción endotelial.

Los antecedentes existentes en la literatura científica antes del inicio de nuestro estudio mostraban la capacidad de diversos fármacos antihipertensivos para producir regresión del remodelado arterial coronario (59, 177-181). No obstante, para ejercer dicho efecto, todos los anteriores fármacos deben ser administrados durante periodos prolongados de tiempo (>6 meses). Dada la elevada incidencia de eventos adversos cardiovasculares (principalmente IAM) asociados al remodelado vascular coronario, parecía muy interesante la búsqueda de un nuevo fármaco capaz de solucionar más rápidamente este grave problema sanitario.

Nuestros resultados revelan que la perfusión intravenosa (300  $\mu$ g/Kg/min) de esmolol, durante un período corto de tiempo (48 horas), induce la regresión del remodelado de las arterias coronarias de SHR adultas (14 meses de edad). A continuación se discutirán los resultados más relevantes del presente estudio que permiten identificar algunos de los mecanismos implicados en el anterior efecto de esmolol.

### ***5.1 Cambios estructurales de la arteria coronaria inducidos por esmolol***

La hipertensión arterial está claramente asociada a remodelado vascular y, consecuentemente, al incremento del riesgo cardiovascular (182). Nuestros resultados corroboran la anterior asociación. Así, tras determinar diversos parámetros estructurales de arterias intramiocárdicas en las SHR [grosor de la pared vascular (GP), el área del vaso (MCSA) y el diámetro interno (DI)], se observó un aumento significativo de estos parámetros respecto a su control normotenso (ratas WKY). Estos datos son congruentes con los obtenidos por Cebova y Kristek (183), quienes demostraron la existencia de hipertrofia del vaso coronario en SHR de 13 meses de edad, aunque estos mismos autores no encontraron diferencias estructurales en las arterias de ratas WKY y SHR más jóvenes. De este último hallazgo se deduce que, a medida que aumenta la edad, se va consolidando el remodelado coronario en las SHR, comportándose como un mecanismo “mal-adaptativo” en respuesta a la hipertensión arterial crónica (20).

Paralelamente, los resultados de nuestro estudio también revelan que la terapia con esmolol produce una serie de cambios precoces en la estructura de la arteria coronaria de las SHR. Estos cambios incluyen una reducción significativa del GP y del MCSA, hasta llegar a valores similares a los encontrados en las ratas normotensas. Adicionalmente, la disminución del GP se acompañó de una reducción en el grosor y número de células de la capa media. En conjunto, todos estos resultados indican que, entre otros mecanismos, una reducción en el número de células del músculo liso de la capa media subyace en la efectividad del esmolol para producir regresión de la hipertrofia concéntrica del vaso coronario.

Existen diversos trabajos publicados que identifican cambios estructurales en el vaso coronario tras el tratamiento con diversos fármacos antihipertensivos, incluidos losartán (177), perindopril (178), amlodipino, enalapril (59), indapamida (179), o carvedilol (181). Adicionalmente, al igual que lo observado en nuestro estudio con esmolol, algunos de los anteriores fármacos han demostrado efectividad para disminuir el grosor de la capa media (59, 177, 179). Sin embargo, a diferencia de nuestros resultados con esmolol, todos los anteriores antihipertensivos sólo producen sus efectos sobre la estructura arterial después de ser administrados por periodos prolongados de tiempo.

## ***5.2 Restauración de la reactividad vascular coronaria inducida por esmolol***

El remodelado vascular lleva implícito cambios estructurales que se acompañan de cambios funcionales relacionados con la reactividad del vaso (disminución de la vasodilatación y aumento de la vasoconstricción en respuesta a diversos estímulos)(112). En base a ello, la capacidad de un determinado antihipertensivo para restituir la funcionalidad perdida del vaso que ha sufrido un proceso de remodelado va a depender de la capacidad del fármaco para restaurar la reactividad vascular. Nuestros resultados demuestran que el esmolol es eficaz para restaurar, de manera rápida, la funcionalidad deteriorada de la arteria coronaria de la SHR. Esta normalización de la reactividad vascular podría ser explicada, en parte, por el marcado e inmediato efecto hipotensor de este fármaco, el cuál es claramente superior al de muchos otros fármacos antihipertensivos (78). Así, el tratamiento durante 48 horas con este  $\beta$ -bloqueante mejoró la respuesta vasodilatadora endotelio-dependiente (mediada por ACh) de las SHR hasta hacerla similar a la de las ratas normotensas. Paralelamente, el anterior tratamiento disminuyó la respuesta vasoconstrictora inducida por 5-HT de manera que, esta última respuesta, era indistinguible de la observada en ratas normotensas. El efecto de esmolol reduciendo la respuesta contráctil a 5-HT podría ser debido a la disminución del GP y del número de células de la capa media. De hecho, ha sido demostrado previamente que ciertos cambios estructurales de la arteria coronaria descendente anterior de las SHR (aumento del GP y del número de células musculares lisas) están asociados al aumento de la respuesta vasoconstrictora de dicho vaso (184).

Existen resultados divergentes en la literatura en relación a la vasoconstricción observada en ratas WKY y SHR tras la administración de 5-HT. Mientras unos estudios, incluyendo el nuestro, encuentran una menor respuesta vasoconstrictora en ratas WKY que en SHR (185); otros encuentran una respuesta similar entre ambos grupos (186), o incluso disminuida en SHR respecto a las ratas WKY (187). Estas diferencias podrían deberse al agente vasoconstrictor empleado, al tipo y tamaño de la arteria, a la metodología del estudio y a la edad del animal empleado (188).

### ***5.3 Disminución del estrés oxidativo por efecto de esmolol***

El presente estudio encuentra niveles plasmáticos de nitritos en la SHR-E mayores que los encontrados en los grupos controles de ratas hipertensas y normotensas (SHR y WKY, respectivamente). Este efecto de esmolol está de acuerdo al observado con diferentes fármacos antihipertensivos, incluyendo otros  $\beta$ -bloqueantes como nebivolol (189), carvedilol (190) y nipradilol (191). No obstante, la elevación de los niveles plasmáticos de nitritos inducida por esmolol en la rata hipertensa, así como los niveles de nitritos encontrados en ratas WKY, fueron superiores a los inducidos por otros fármacos  $\beta$ -bloqueantes (189).

Nuestros resultados también demuestran que el tratamiento con esmolol genera un incremento de SOSA en la rata o, lo que es lo mismo, un incremento de las moléculas antioxidantes de alto peso molecular (scavengers). El hecho de que la actividad total antioxidante (TAC) no se incremente con esmolol respecto a los grupos de ratas sin tratar refleja que el aumento de SOSA se produce, al menos en parte, a expensas del aumento de la actividad de la SOD plasmática y no a través de radicales libres-scavengers (190). A través de la activación de la SOD, el tratamiento con esmolol incrementa la biodisponibilidad del NO en el vaso coronario de la SHR y, por tanto, mejora la disfunción endotelial y la respuesta vasodilatadora. En base a lo que se acaba de exponer, se puede asumir que el esmolol es capaz de disminuir el estrés oxidativo asociado a la hipertensión arterial. Precisamente, la capacidad antioxidante es uno de los mecanismos que parecen subyacer en la eficacia de la terapia antihipertensiva (192).

### ***5.4 Mejora de la disfunción endotelial inducida por esmolol***

El ADMA, inhibidor de la eNOS, es un biomarcador de riesgo cardiovascular bien establecido (193). Este biomarcador aumenta en pacientes con hipertensión arterial e HVI (194, 195), lo cual concuerda con el aumento de ADMA, plasmático y ventricular, encontrado en las SHR del presente estudio. Nuestros datos también revelan una rápida y significativa disminución de la concentración de ADMA por efecto de esmolol en las SHR. Esta reducción de ADMA, junto con el aumento en la actividad de la eNOS y el incremento de la biodisponibilidad del NO, ha sido también observada tras la administración de nebivolol, un  $\beta$ -bloqueante de tercera generación (189).

Conviene recordar que la disfunción endotelial secundaria a la hipertensión arterial está asociada al aumento de la concentración plasmática de ADMA que, como se se ha mencionado

anteriormente, juega un papel crucial como regulador negativo de la producción de NO endotelial (196). De esta manera ADMA, al inhibir la síntesis de NO, aumenta la proliferación de las células musculares lisas (197). En base a ello, se puede proponer que la reducción de la concentración de ADMA, y la consiguiente inhibición de la proliferación de las células musculares lisas de la capa media, podría subyacer, entre otros mecanismos, en el efecto protector del esmolol a la hora de inducir la regresión del remodelado de las arterias coronarias.

Nuestros datos muestran que el esmolol normaliza la respuesta vasodilatadora endotelio-dependiente de la arteria coronaria descendente anterior mediante un aumento de la biodisponibilidad del NO. El presente estudio también revela que este incremento de NO puede proceder del aumento de la SOD y de la disminución de ADMA en plasma y ventrículo. Aunque ciertos antihipertensivos, como nebivolol y losartán, reproducen el efecto del esmolol sobre ADMA, esos otros fármacos solo lo hacen después de tratamientos prolongados (189, 198). Por tanto, nuestro estudio es el primero en identificar un fármaco, el esmolol, capaz de producir una disminución rápida del anterior biomarcador de disfunción endotelial. A través de éste último mecanismo, el esmolol podría contribuir al aumento de biodisponibilidad de NO y a la mejora de capacidad vasodilatadora del vaso coronario.

## **5.5 *Dónde estamos y a dónde vamos***

En este trabajo hemos demostrado el efecto precoz de un  $\beta$ -bloqueante cardiosselectivo, el esmolol, a la hora de inducir la regresión del remodelado de las arterias coronarias en un modelo experimental de hipertensión. Para ello, utilizando la rata normotensa como referencia, nos hemos centrado en estudiar los cambios aparecidos en el animal hipertenso, tratado o no con esmolol, en lo que respecta a: 1) la estructura del vaso coronario (utilizando técnicas de microscopía óptica y confocal), 2) la función del mismo (mediante el miógrafo de alambre) y 3) los biomarcadores de estrés oxidativo y de disfunción endotelial (para identificar posibles mecanismos implicados en los cambios estructurales y funcionales anteriores).

Tomando como base los resultados de esta tesis doctoral, nuestro grupo de investigación ha continuado diseñando nuevos experimentos encaminados a determinar si el esmolol es capaz de producir mejoría del flujo coronario (mediante técnicas de imagen SPECT) y cuales son sus efectos en otros vasos de menor resistencia (aorta o arterias mesentéricas). Por otra parte, pretendemos profundizar en los mecanismos implicados en el remodelado vascular (análisis de



enzimas de estrés oxidativo y disfunción endotelial por técnicas de western blot), así como estudiar la permanencia en el tiempo de los efectos observados en el vaso coronario tras la finalización del tratamiento con esmolol. En relación a esto último, ya existe un estudio que demuestra el mantenimiento de los efectos del nevigolol sobre el remodelado vascular a los 3 meses de suspensión de este fármaco (199).

### **5.6 Limitaciones y fortalezas del estudio:**

Tras el análisis de nuestro trabajo experimental, encontramos las siguientes **LIMITACIONES** que deben ser abordadas en estudios futuros:

- a) La dosis de esmolol empleada en las ratas ha sido calculada a partir de la utilizada en la práctica clínica en humanos (162). Sin embargo, no se ha tenido en cuenta que pueden existir diferencias farmacodinámicas-farmacocinéticas entre roedores y humanos, por lo que los resultados en rata no son totalmente extrapolables al hombre.
- b) El grado de disfunción endotelial difiere en la rata SHR dependiendo de la edad, sexo, tipo de arteria y metodología empleada en el estudio de la función vascular (188). Por lo tanto, los resultados de nuestro estudio son sólo aplicables a la arteria coronaria descendente anterior de la rata SHR macho de 14 meses de edad.
- c) El presente trabajo demuestra la regresión del remodelado arterial coronario tras 48 horas de tratamiento con esmolol. Sin embargo, carecemos de datos indicativos de la persistencia o no de estos efectos más allá del periodo de tratamiento, por lo que se requieren estudios adicionales que aclaren este interesante aspecto.
- d) Para asegurar que la regresión del remodelado de las arterias coronarias es un efecto terapéutico del esmolol es imprescindible que nuestro trabajo experimental pueda ser contrastado mediante la realización de los pertinentes ensayos clínicos.

En contraposición a lo anterior, nuestro estudio posee las siguientes **FORTALEZAS**:

- a) Se trata de un trabajo experimental novedoso y complejo, con metodología apropiada para detectar los cambios estructurales y funcionales aparecidos en el vaso coronario tras la administración de esmolol.

- b) Es el primer estudio que demuestra una regresión del remodelado coronario inducida precozmente por un fármaco, el  $\beta$ -bloqueante cardiosselectivo esmolol, administrado solo durante 48 horas.
- c) Los efectos del esmolol encontrados por nuestro grupo, tanto sobre arterias coronarias como sobre ventrículo izquierdo(15), podrían suponer un gran beneficio para el paciente hipertenso con cardiopatía compensada, ya que evitarían la progresión de la enfermedad hacia la cardiopatía isquémica y la disfunción miocárdica.
- d) Es posible que nuestros datos puedan tener aplicabilidad clínica en un futuro. Así, una terapia de choque con esmolol durante 48 horas, seguida del posterior control estricto de la hipertensión a largo plazo (con ARA-II, IECAS o antagonistas de calcio) podría influir, de manera muy positiva, en el pronóstico de los anteriores pacientes, disminuyendo la mortalidad de causa cardíaca que, a día de hoy, constituye la primera causa de muerte en nuestro país (200).

## ***6. CONCLUSIONES (Parte-I)***

### ***CONCLUSIONS (Part-I)***

A partir de los resultados obtenidos de este trabajo experimental y de la discusión de los mismos, podemos formular las siguientes conclusiones:

- 1) El esmolol produce regresión precoz del remodelado de la arteria coronaria en SHR, un modelo experimental de hipertensión arterial primaria e hipertrofia cardíaca asociada, combinada con alteraciones funcionales y estructurales de las arterias coronarias.
- 2) La arteria coronaria de la SHR tratada con esmolol manifiesta diferencias estructurales significativas respecto a la de la rata hipertensa sin tratar. Estos cambios incluyen la disminución del grosor de la pared y de la capa media, así como una reducción del número de células de esta última capa.
- 3) El esmolol normaliza la función arterial coronaria de la rata hipertensa hasta equipararla con la de la rata normotensa. Así, el fármaco produce incremento de la capacidad vasodilatadora endotelio-dependiente de la arteria, junto a una disminución de su respuesta contráctil.
- 4) El tratamiento con esmolol disminuye el estrés oxidativo en SHR como resultado del incremento de actividad de los antioxidantes superóxido dismutasa y catalasa y del aumento de la biodisponibilidad de NO.
- 5) El esmolol aumenta la producción de NO en SHR al disminuir la concentración del antagonista endógeno competitivo de eNOS, ADMA. La reducción de ADMA por el fármaco es, a su vez, el resultado del aumento de actividad de su enzima metabolizadora DDAH.
- 6) El rápido efecto de esmolol revirtiendo, de forma rápida, el remodelado coronario (presentes datos) y la hipertrofia del ventrículo izquierdo en SHR (15) sugiere su potencial utilidad en pacientes hipertensos con cardiopatía compensada, siempre que nuestros resultados experimentales pudieran ser extrapolables a este grupo poblacional. Si ello fuera así, una terapia de choque con esmolol, seguida del adecuado control tensional a largo plazo con otros agentes antihipertensivos, podría prevenir o frenar la progresión de la enfermedad hipertensiva hacia la cardiopatía isquémica y la disfunción miocárdica.

From the results obtained in the experimental study and their discussion, we can draw the following conclusions:

- 1) Esmolol produces early regression of coronary artery remodeling in an experimental primary hypertension model associated with cardiac hypertrophy combined with coronary artery structural and functional disorders.
- 2) Coronary artery from esmolol-treated SHR shows significant structural changes compared to that from untreated hypertensive rats. These changes include a reduction in the thickness of both the wall and the tunica media, as well as a reduction in the cell number in the latter layer.
- 3) Esmolol normalizes coronary artery function in hypertensive rats, making it similar to that in normotensive rats. Thus, the drug increases arterial endothelium-dependent vasodilator capacity while decreasing the contractile response.
- 4) Treatment with esmolol reduces oxidative stress in SHR as a result of increased NO bioavailability and antioxidant superoxide dismutase and catalase activities.
- 5) Esmolol increases NO production in SHR by decreasing the concentration of the endogenous competitive eNOS antagonist, ADMA. The reduction in ADMA induced by the drug is, in turn, the result of increased activity of its metabolizing enzyme, DDAH.
- 6) The rapid effect of esmolol in reversing coronary remodeling (present data) and left ventricular hypertrophy (15) suggests its potential usefulness in hypertensive patients with compensated heart disease, provided that our experimental findings could be extrapolated to this population group. If so, then the shock therapy with esmolol, followed by the appropriate long-term blood pressure control with other antihypertensive agents, may prevent or slow the progression of hypertensive disease to ischemic heart disease and myocardial dysfunction.

## **PARTE II**

***ESTUDIO OBSERVACIONAL DE LA INFLUENCIA  
DEL TRATAMIENTO CRÓNICO  $\beta$ -BLOQUEANTE  
EN LA APARICIÓN DE COMPLICACIONES  
PERIOPERATORIAS EN CIRUGÍA NO CARDIACA***

# ***1. INTRODUCCIÓN***

## 1.1 EPIDEMIOLOGÍA

Más de 200 millones de adultos son intervenidos anualmente de cirugía mayor no cardíaca (vascular, abdominal, ortopédica, neurológica, urológica) a nivel mundial (201, 202). Esta cifra sigue un ritmo ascendente (203) por lo que continua incrementándose, paralelamente, el número de pacientes pluripatológicos intervenidos y el riesgo de que aparezcan complicaciones posquirúrgicas y de morbilidad perioperatoria. Entre las principales complicaciones que aparecen se encuentran los eventos cardiovasculares mayores, tales como el infarto agudo de miocardio (IAM), la parada cardíaca o la muerte de causa cardíaca.

Cada año, más de 10 millones de adultos en el mundo sufren una complicación de este tipo en los 30 días siguientes a la intervención quirúrgica (204, 205). Estas complicaciones resultan difíciles de predecir ya que pueden aparecer, tanto en pacientes con antecedentes conocidos de cardiopatía como en los que no los tienen. Algunos tipos de cirugía (vascular mayor) comportan un riesgo de evento cardíaco mayor por encima del 5%, de ahí que sean consideradas *de alto riesgo*. En otros tipos de cirugía (cirugía de cabeza y cuello, intratorácica, abdominal, urológica y ortopédica), el riesgo de desarrollar IAM/muerte cardíaca oscila entre el 1 y el 5%, y son consideradas *cirugías de riesgo intermedio*. Finalmente, existe un tercer grupo de cirugías (de mama, endoscópica o cirugía mayor ambulatoria) que presentan un *riesgo bajo* de desarrollar la anterior complicación.

En las dos últimas décadas, varios estudios han evaluado la eficacia de los  $\beta$ -bloqueantes en la profilaxis de las complicaciones perioperatorias en cirugía no cardíaca, pero los resultados de estos estudios han sido enormemente contradictorios, como veremos más adelante.

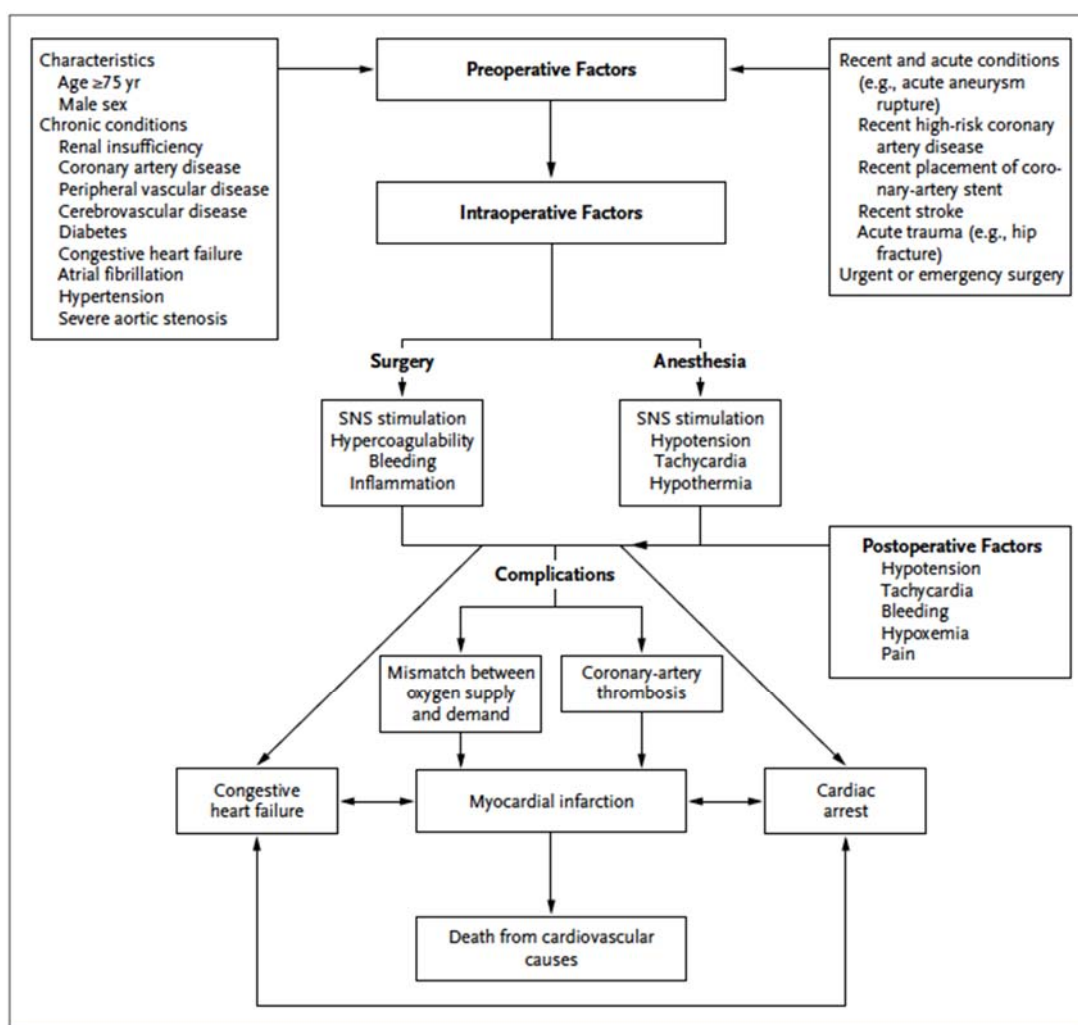
## 1.2 MECANISMOS IMPLICADOS EN EL DESARROLLO DE COMPLICACIONES CARDIOVASCULARES EN EL PERIOPERATORIO

La figura 25, tomada de una revisión muy reciente del N Eng J Med (206), muestra los principales factores predisponentes para el desarrollo de una complicación cardiovascular en el perioperatorio. Entre estos factores se incluyen la existencia de comorbilidades preoperatorias y condiciones agudas en el momento de admisión hospitalaria, así como factores intraoperatorios y postoperatorios. Varios estudios clínicos prospectivos que recogen una amplia causística (207, 208) demuestran que la enfermedad isquémica coronaria es el principal factor predisponente para



el desarrollo de complicaciones cardíacas en torno al momento de la intervención. Los factores derivados del propio acto quirúrgico [activación del sistema nervioso simpático (SNS), estado procoagulante, sangrado, inflamación], así como los derivados de la anestesia (hipotensión, taquicardia, hipotermia), también influyen de forma directa en la aparición de complicaciones cardiovasculares intra y perioperatorias.

A lo largo de las dos últimas décadas, se ha defendido que el tratamiento con  $\beta$ -bloqueantes podría estar actuando como un factor protector frente al desarrollo de complicaciones cardiovasculares (71), tal y como veremos a continuación.



**Figura 25.-** Factores preoperatorios, intraoperatorios y postoperatorios asociados al desarrollo de complicaciones cardíacas en cirugía mayor no cardíaca (original tomado de Devereaux et al. *N Eng J Med*, 2015).

## **1.3 EVIDENCIA CIENTÍFICA SOBRE EL MANEJO PERIOPERATORIO DE LOS $\beta$ -BLOQUEANTES:**

### **1.3.1 Repercusión del tratamiento $\beta$ -bloqueante sobre el pronóstico de los pacientes sometidos a cirugía:**

En las dos últimas décadas, la terapia perioperatoria con  $\beta$ -bloqueantes ha constituido un pilar fundamental dentro del conjunto de estrategias terapéuticas para disminuir el riesgo de desarrollar un evento cardíaco mayor. El potencial efecto beneficioso de esta terapia sobre el miocardio, a través de mecanismos todavía no claramente conocidos (inhibición del SNS y de su respuesta taquicardizante, mejoría de la relación aporte/consumo de oxígeno miocárdico, regresión del remodelado cardíaco, prevención de la ruptura de la placa de ateroma) se estableció mediante estudios controlados y aleatorizados clásicos con un amplio tamaño muestral, como el estudio de Mangano (209) y el estudio DECREASE-I (Dutch Ecocardiographic Cardiac Risk Evaluation Applying Stress Echocardiography) (210).

Posteriormente, en el año 2008, se publicó el primer estudio controlado, aleatorizado y multicéntrico, el POISE (Perioperative Ischemic Evaluation), que incluía 8.351 pacientes sometidos a cirugía no cardíaca (la mayoría cirugía vascular, intrabdominal u ortopédica) con una edad superior o igual a 45 años. Se distribuyeron aleatorizadamente en dos grupos, según recibieran tratamiento oral con placebo o con succinato de metoprolol de liberación retardada (100 mg/día distribuidos en 2 tomas, la primera dosis 2-4 h antes de la cirugía y hasta 30 días después). El grupo tratado con metoprolol presentó un descenso muy significativo de eventos cardiovasculares (muerte por causa cardíaca, IM o parada cardíaca no mortal); sin embargo, paralelamente, se observó un aumento del riesgo de mortalidad global (HR=1,33; IC del 95%: 1,03-1,74), de accidente cerebrovascular (HR=2,17; IC del 95%: 1,26-3,74), de hipotensión (HR=1,55; IC del 95%: 1,38-1,74) y de bradicardia (HR=2,74; IC del 95%: 2,19-3,43) (211). Similares resultados fueron recogidos en un potente meta-análisis publicado por Bangalore (212) y colaboradores tras analizar 33 ensayos clínicos y un total de 12.306 pacientes.

Los resultados aparentemente satisfactorios del estudio DECREASE IV (213), que incluyó 1.066 pacientes con un riesgo cardiovascular perioperatorio intermedio, fueron finalmente rebatidos al conocerse que habían sido manipulados y no eran veraces, como fue denunciado por Chopra y Eagle (214). Todo lo anteriormente comentado ha obligado al Colegio Americano de

Cardiología/Sociedad Americana del Corazón (American College of Cardiology/American Heart Association; ACC/AHA) (245) y a la Sociedad Europea de Cardiología (European Society of Cardiology; ESC) (204) a desescalar, entre sus recomendaciones, el manejo perioperatorio generalizado de  $\beta$ -bloqueantes, reservando la indicación de esta terapia para casos muy concretos (ver tablas 14 y 15). En estos casos, se recomienda iniciar el tratamiento  $\beta$ -bloqueante entre 1 y 30 días antes de la cirugía, ajustando progresivamente la dosis para mantener una FC en torno a 60-70 lpm y una TAS >100 mm de Hg.

**Tabla 14.-** Recomendaciones sobre el uso perioperatorio de  $\beta$ -bloqueantes. FRCV=factores de riesgo cardiovascular (DM, IC, CI, IR, ACVA). CI = *Cardiopatía isquémica* (Adaptado de las guías de la ACC/AHA y ESC) (204, 245).

Recomendación	ACC/AHA (2014)	ESC (2014)
<b>Clase I</b>	Tratamiento crónico previo ( <b>IB</b> )	Tratamiento crónico previo ( <b>IB</b> )
<b>Clase II</b>	Cirugía de alto riesgo + $\geq 3$ FRCV ( <b>IIb/B</b> ) Cirugía de alto riesgo + CI/test isquemia positivo ( <b>IIb/C</b> )	Cirugía alto riesgo + $\geq 2$ FRCV ( <b>IIb/B</b> ) CI/ test isquemia positivo ( <b>IIb/B</b> )

**Tabla 15.-** Clases de recomendaciones y nivel científico de evidencia. (Adaptado de las guías de la ACC/AHA y ESC) (204, 245).

Clase de recomendación	Definición
<u>Clase I</u>	Recomendación clara de un tratamiento por su beneficio
<u>Clase IIa</u>	Recomendación de tratamiento con divergencia de opinión sobre su beneficio
<u>Clase IIb</u>	Recomendación a favor de un tratamiento con indicación no bien establecida
<u>Clase III</u>	Tratamiento contraindicado

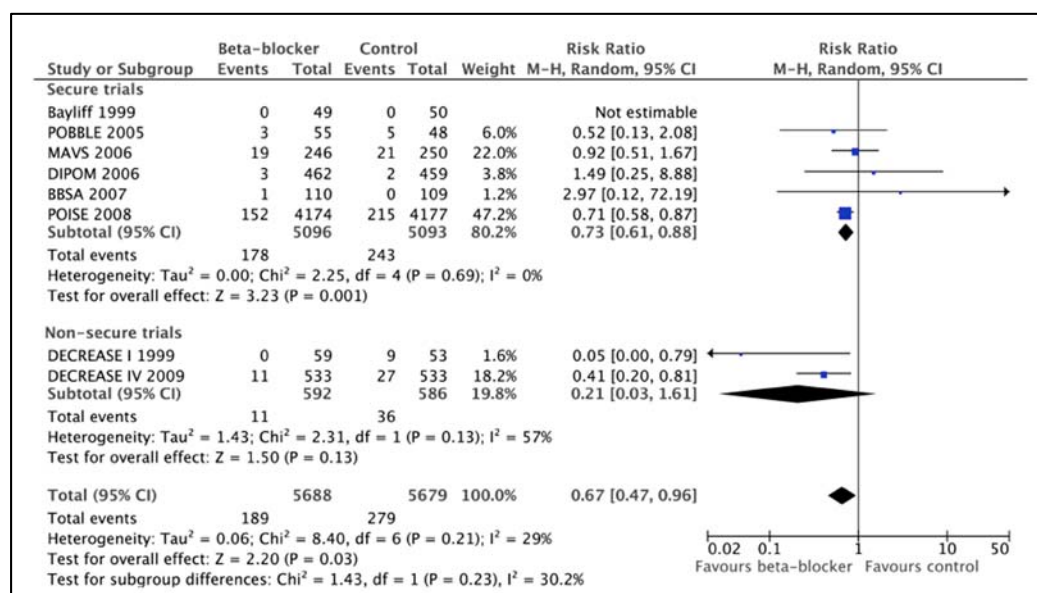
  

Nivel de evidencia	
<u>Nivel A</u>	Evidencia de múltiples ensayos clínicos
<u>Nivel B</u>	Evidencia de un solo estudio o múltiples no aleatorizados
<u>Nivel C</u>	Opinión de expertos, registros, o estudio retrospectivo

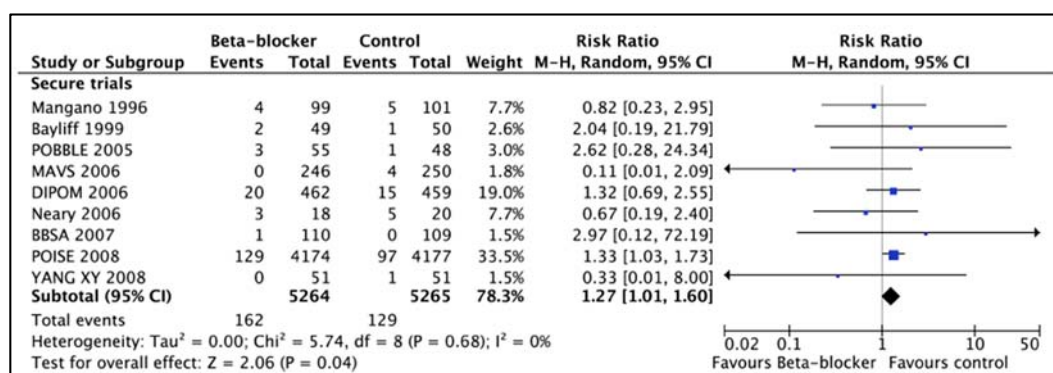
A pesar de todo lo anterior, a día de hoy, aún continúan las discrepancias entre expertos en lo concerniente a la seguridad del uso de los  $\beta$ -bloqueantes durante el periodo perioperatorio. Recientemente, Bouri y col. (215) han publicado un meta-análisis que incluía nueve ensayos

clínicos controlados y randomizados, con un total de 10.529 pacientes, a la vez que se excluían los ensayos clínicos considerados como “no seguros”, como el estudio DECREASE-IV de Poldermans (213). Dicho metaanálisis concluye que el tratamiento perioperatorio con  $\beta$ -bloqueantes reduce el riesgo de desarrollar infarto agudo de miocardio (RR= 0,73; p=0,001) pero incrementa el riesgo de ACVA (RR= 1,73; p=0,05) e hipotensión (RR 1,51; p=0,00001) y, lo que es aún más importante, el anterior tratamiento aumenta la mortalidad (registrada a los 30 días o hasta el alta hospitalaria) en un 27% (IC95%, 1% - 60%). Las tablas 16-18 recogen los resultados principales de este metaanálisis:

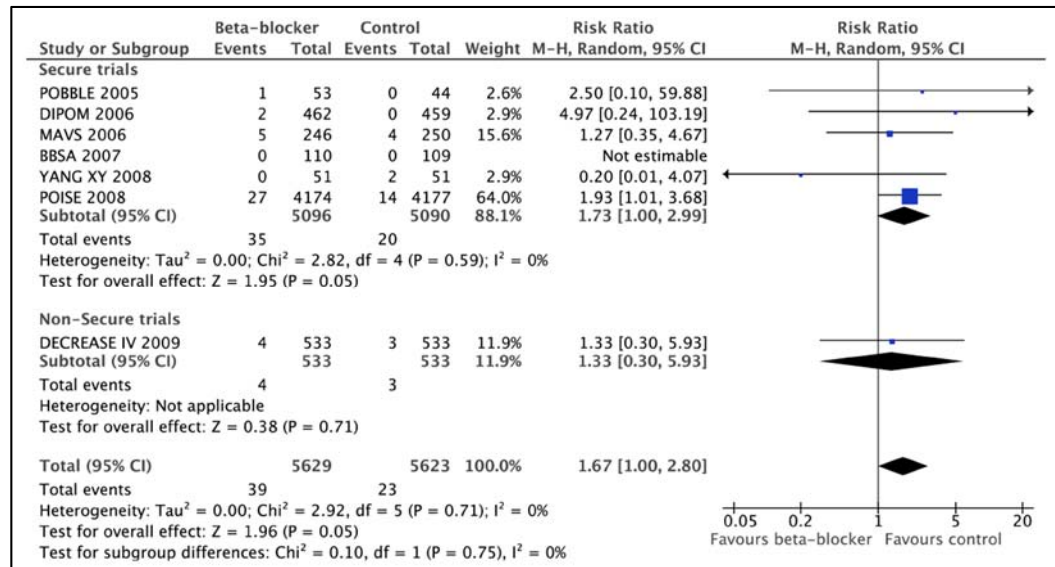
**Tabla 16.-** Efecto de los  $\beta$ -bloqueantes en el desarrollo de IAM en el perioperatorio. *LAM, infarto agudo de miocardio. (Tomado de Bouri et al., 2014)*



**Tabla 17.-** Efecto de los  $\beta$ -bloqueantes en el desarrollo de ACVA en perioperatorio (Tomado de Bouri et al., 2014) (215).



**Tabla 18.-** Influencia de los  $\beta$ -bloqueantes en la mortalidad perioperatoria (Tomado de Bouri et al., 2014) (215).



La tabla 19 recopila las principales características de los ensayos clínicos incluidos en el anterior meta-análisis. Cabe destacar la gran heterogeneidad entre ensayos en cuanto al patrón de administración del  $\beta$ -bloqueante (momento de inicio del tratamiento, duración del mismo, forma de titular dosis, tipo fármaco empleado). Es destacable que el grueso de la evidencia de este estudio se basó en el estudio POISE (211), cuyos resultados han sido ampliamente cuestionados por la utilización de dosis excesivas y no tituladas de  $\beta$ -bloqueante (100 mg de succinato de metoprolol, 2-4 horas antes de la cirugía). Ninguno de los estudios incluidos en este metaanálisis utilizó una terapia con  $\beta$ -bloqueantes en el preoperatorio con un intervalo superior a un día antes de la cirugía.

**Tabla 19.-** Estudios prospectivos randomizados incluidos en el meta-análisis de Bouri et al., 2014. V= Cirugía Vascular. A= Cirugía abdominal, O= Cirugía Ortopédica, N= Neurocirugía, T= Cirugía Torácica, P= Cirugía plástica

Estudio/Año	N	Qx	Fármaco	Inicio	Fin
Mangano/ 1996	200 pt	V, A, O, N	Atenolol	30 min preQx	7 d postQx
Bayliff/ 1999	99 pt	T	Propanolol	1 d preQx	5 d postQx
DECREASE I/ 1999	112 pt	V	Bisoprolol	7 d preQx	30 d postQx
POBBLE/ 2005	97 pt	V	Metoprolol	1 d preQx	7 d postQx
DIPOM/ 2006	921 pt	V,O, A,N,G	Metoprolol	1 d preQx	8 d postQx
MaVS/ 2006	496 pt	V	Metoprolol	2 h preQx	5 d postQx
Neary/ 2006	38 pt	Emergente	Atenolol	En Qx	7 d postQx
BBSA/ 2007	224 pt	V, A, O, P	Bisoprolol	3 h preQx	10 d postQx
POISE/ 2008	8351 pt	V, O	Succinato de Metoprolol	2-4 h preQx	30 d postQx
Yang/ 2008	102 pt	T, A	Metoprolol	2 h preQx	30 d postQx

En un segundo meta-análisis con 12.928 pacientes, publicado en 2010 por Angeli y col. (216), se investigó la influencia del tratamiento con  $\beta$ -bloqueantes en la mortalidad cardiovascular por cualquier causa, según grupos de riesgo quirúrgico específico, duración del tratamiento y utilización de dosis crecientes hasta lograr el objetivo de frecuencia cardíaca (216). El beneficio de los  $\beta$ -bloqueantes se observó en cinco estudios de cirugía de alto riesgo y en seis en los que se aumentó la dosis gradualmente para alcanzar la frecuencia cardíaca objetivo. Entre estos estudios positivos, uno de los incluidos en el primer grupo y dos del segundo grupo correspondían a la familia de estudios de DECREASE (declarados fraudulentos).

De acuerdo con lo anteriormente expuesto, a día de hoy prácticamente todos los estudios realizados han evaluado los efectos de la terapia aguda con  $\beta$ -bloqueantes durante el periodo perioperatorio; sin embargo, no existen estudios clínicos de suficiente calidad metodológica sobre la influencia que pueda tener el tratamiento crónico con  $\beta$ -bloqueantes sobre el pronóstico del paciente sometido a cirugía mayor. La explicación a ello se debe, probablemente, al gran coste de estos estudios, así como al problema ético que supone diseñar estudios prospectivos y aleatorizados que incluyan un grupo de pacientes con suspensión perioperatoria del tratamiento crónico  $\beta$ -bloqueante. A pesar de lo anteriormente comentado, las últimas guías de las Sociedades Europea de Cardiología y de Anestesiología (ESC/ESA) así como las Americanas (AHA/ACCP) publicadas en 2014 recomiendan el mantenimiento de estos fármacos durante el postoperatorio (204, 245) (ver tabla 14). Esta recomendación estaría sustentada en las siguientes premisas:

- a) Los  $\beta$ -bloqueantes, mantenidos a largo plazo, han demostrado mejorar ampliamente el pronóstico de los pacientes con historia de cardiopatía isquémica y arritmias (no en la hipertensión arterial) fuera del contexto perioperatorio, como veremos más adelante.
- b) La interrupción brusca de los  $\beta$ -bloqueantes durante el periodo perioperatorio se ha relacionado con un mayor riesgo de desarrollar IAM y mortalidad (217). Este hecho se produce por aumento de la activación simpática secundaria al cese del tratamiento, la cual parece correlacionarse con la existencia de un mayor número de receptores  $\beta_1$  en el corazón tras la exposición prolongada a fármacos  $\beta$ -bloqueantes (218).

### 1.3.2 ¿Existe algún $\beta$ -bloqueante más beneficioso para profilaxis perioperatoria en cirugía no cardíaca?

La evidencia disponible señala la superioridad de la terapia aguda con  $\beta$ -bloqueantes cardiosselectivos (o bloqueantes del ADR- $\beta_1$ ), sin actividad simpaticomimética intrínseca, para mejorar el pronóstico de los pacientes intervenidos de cirugía no cardíaca (ver tabla 20). Los fármacos  $\beta$ -bloqueantes con menor cardiosselectividad pueden predisponer a ACVA a través del bloqueo de receptores- $\beta_2$ . Dentro de los  $\beta$ -bloqueantes cardiosselectivos, diversos estudios han demostrado que atenolol y bisoprolol son superiores al metoprolol (220-222). En un ensayo clínico reciente, sobre una cohorte de 2.462 pacientes, se observó que metoprolol o atenolol (analizados conjuntamente) se asociaban a un mayor riesgo de desarrollar ACVA postoperatorio (0,20; 95% CI, 0.04 - 0.99) respecto a bisoprolol, un fármaco aún más cardiosselectivo (221). Por todo lo anterior, las guías de la ESC recomiendan escoger el bisoprolol o el atenolol como fármacos de elección para la profilaxis perioperatoria en aquellos pacientes que van a someterse a cirugía no cardíaca y no están siguiendo un tratamiento crónico con  $\beta$ -bloqueantes (*Recomendación clase IIb*) (204).

**Tabla 20.-** Grado de cardiosselectividad de los  $\beta$ -bloqueantes junto a otras características farmacológicas de los mismos. Nótese cómo el bisoprolol tiene más selectividad  $\beta_1$  que el atenolol y que, éste último, es a su vez más cardiosselectivo que el metoprolol. *ASI = actividad simpaticomimética intrínseca.* (Adaptado de Ladage D et. al, *Cardiovasc Ther*, 2013).

	Selectividad $\beta_1$	ASI	Liposolubilidad	Dosis diaria (mg)	Duración de la acción (h)
Acebutolol	+	+	+	200-1200	24
Atenolol	++	-	-	25-100	12
Betaxolol	++	-	-	5-40	24
Bisoprolol	+++	-	+	2,5-20	24
Bucindolol	-	+	+	50-200	24
Carteolol	-	+	-	2,5-10	24
Celiprolol	++	-	-	200-400	24
Esmolol	++	-	-	25-300	
Metoprolol	++	-	++	50-200	12
Nadolol	-	-	-	20-240	24
Nebivolol	++		++	5-10	24
Penbutolol	-	+	+++	10-20	24
Pindolol	-	+++	++	10-60	12
Propranolol	-	-	+++	40-240	12
Timolol	-	-	++	10-40	12



### 1.3.3 Evidencia sobre los beneficios del tratamiento a largo plazo con $\beta$ -bloqueantes

Durante los últimos 50 años, los estudios realizados con  $\beta$ -bloqueantes han permitido demostrar el beneficio de estos fármacos en un amplio espectro de patología cardiovascular por lo que, gracias a ello, estos fármacos ocupan actualmente un lugar destacado dentro de las recomendaciones prácticas de las sociedades científicas internacionales (73) (tabla 21).

**Tabla 21.-** Recomendaciones terapéuticas de tratamiento crónico con  $\beta$ -bloqueantes  
(Adaptado de López Sendón, 2005).

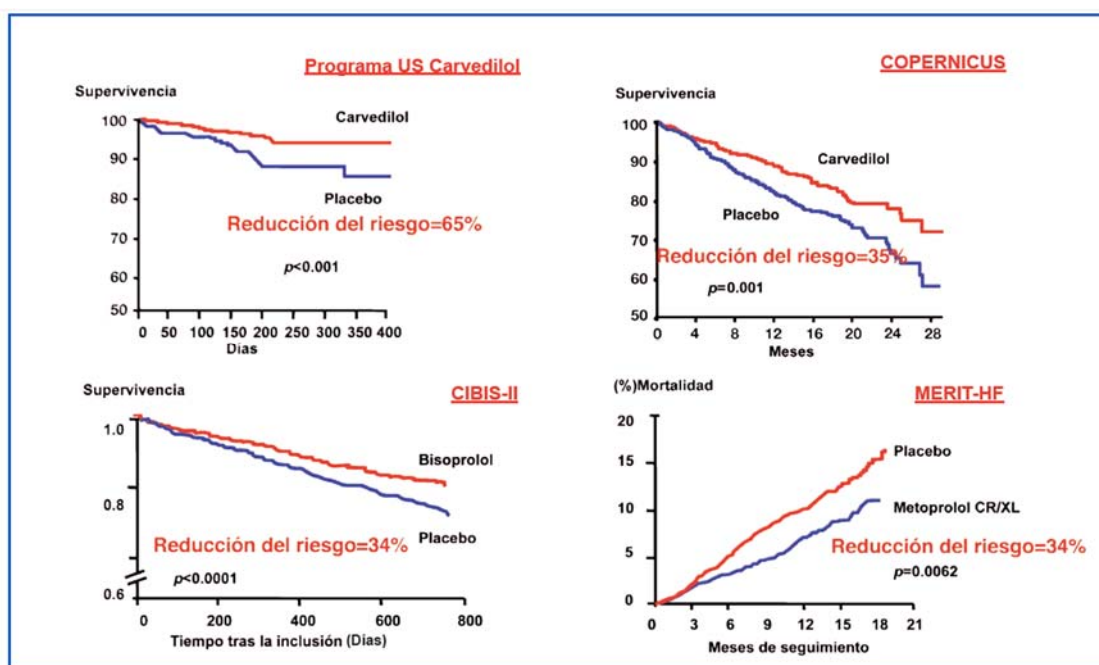
Situación clínica	Recomendación	Nivel de evidencia
Infarto agudo de miocardio	I	A
Arritmias	I	A
Muerte súbita	I	A
Insuficiencia cardíaca	I	A

A continuación, se resumen los principales efectos beneficiosos del tratamiento crónico con estos fármacos:

- a) Profilaxis secundaria en el infarto agudo de miocardio.**- Los  $\beta$ -bloqueantes han demostrado reducir el tamaño del infarto y la mortalidad por rotura cardíaca (222). Así mismo, estos fármacos reducen la mortalidad en los pacientes que han sufrido un IAM, no sólo gracias a la optimización de la relación consumo-aporte de oxígeno miocárdico, sino también por su capacidad para prevenir la aparición de arritmias e inhibir el remodelado cardíaco. Así, los  $\beta$ -bloqueantes aumentan el umbral de excitabilidad para desencadenar fibrilación ventricular en diversos estudios (223), a la vez que reducen el riesgo relativo de muerte cardíaca súbita. A pesar del aumento del umbral de excitabilidad para desencadenar fibrilación en isquemia aguda producido por estos fármacos, su utilización precoz en el infarto de miocardio para prevenir la aparición de fibrilación ventricular ha evidenciado resultados contradictorios (224, 225). Por ello, en la era actual de la revascularización coronaria precoz mediante angioplastia, el uso sistemático de  $\beta$ -bloqueantes intravenosos en el infarto de miocardio probablemente no está justificado.



**b) Tratamiento de la insuficiencia cardiaca.-** A pesar de su efecto inotrópico negativo, se ha demostrado que los  $\beta$ -bloqueantes mejoran el pronóstico de los pacientes con insuficiencia cardiaca, reduciendo la mortalidad global y el riesgo de muerte súbita. Este efecto beneficioso de los  $\beta$ -bloqueantes puede ser explicado, en parte, por la reducción del remodelado cardiaco desarrollado durante la enfermedad (ver figura 26). Bisoprolol (226), metoprolol y carvedilol (227) han demostrado reducir la mortalidad en estos pacientes, aunque el carvedilol lo hace en mayor medida que metoprolol (228). No se conoce bien el mecanismo por el que los  $\beta$ -bloqueantes ejercen este efecto beneficioso, aunque pudiera relacionarse con el bloqueo del SNS y del sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA).



**Figura 26.-** Estudios que confirman aumento de supervivencia en pacientes con IC tratados con  $\beta$ -bloqueantes.

**c) Profilaxis secundaria en arritmias.-** En un estudio aleatorizado frente a placebo, el metoprolol redujo la recidiva de fibrilación auricular en pacientes con fibrilación auricular persistente (48,7% *vs.* 59,9% con placebo) (229). En otro ensayo aleatorizado que comparaba los efectos de bisoprolol y sotalol como estabilizadores del ritmo sinusal tras cardioversión eléctrica en este tipo de pacientes, se observó que el bisoprolol era tan eficaz como el sotalol en el mantenimiento en ritmo sinusal (230). Por otro lado, los

antiarrítmicos del grupo III y los  $\beta$ -bloqueantes han demostrado reducir la incidencia de fibrilación auricular en el postoperatorio de cirugía cardíaca (231).

**d) Profilaxis secundaria de muerte cardíaca súbita (MCS).**- Los pacientes con cardiopatía estructural que han sufrido una taquicardia ventricular tienen elevado riesgo de recidiva y de desarrollar MCS. En este grupo de pacientes, está indicada la implantación de un desfibrilador automático (DAI) como prevención secundaria de MSC. Datos procedentes del ensayo MADIT-II indican que los  $\beta$ -bloqueantes, en pacientes portadores de DAI, aumentan la supervivencia y reducen el riesgo de descargas por dicho dispositivo (232).

## **1.4 JUSTIFICACIÓN DEL PRESENTE ESTUDIO OBSERVACIONAL**

A continuación se resumen los principales resultados derivados de la revisión bibliográfica expuesta que justifican la hipótesis y objetivos que se plantean en esta sección de la tesis:

- El tratamiento crónico (meses-años) con  $\beta$ -bloqueante ha demostrado tener efectos beneficiosos al aumentar la supervivencia de los pacientes con historia previa de IAM y/o IC. Adicionalmente, este tratamiento revierte el remodelado cardíaco y vascular en pacientes con HTA, diabetes y otras patologías cardiovasculares.
- La administración aguda de  $\beta$ -bloqueantes durante el periodo perioperatorio (día de la intervención hasta los 30 días siguientes de postoperatorio) ha demostrado eficacia en la profilaxis del desarrollo de IAM en pacientes “de alto riesgo” (ver tabla 14) en los que se había hecho titulación de dosis en función de parámetros hemodinámicos.
- No obstante, llama la atención que no existan estudios clínicos, de suficiente calidad, en los que se analice la influencia que tiene el tratamiento crónico con  $\beta$ -bloqueantes en el pronóstico de los pacientes intervenidos de cirugía no cardíaca.

## ***2. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS***

## 2.1. HIPÓTESIS

En nuestro estudio experimental hemos visto que el antagonista selectivo del receptor  $\beta_1$ , el esmolol, produce regresión del remodelado vascular; en congruencia con lo anterior, un metanálisis realizado con 1.765 pacientes de cirugía no cardíaca ha demostrado que el esmolol disminuye la incidencia de isquemia miocárdica perioperatoria (82). Numerosos estudios han demostrado que la terapia a largo plazo con  $\beta$ -bloqueantes produce regresión en el remodelado vascular y, por tanto, optimiza la perfusión de los tejidos (91, 109, 122, 124, 126). Por todo ello, hemos diseñado este estudio observacional clínico con las siguientes hipótesis:

- **Hipótesis principal** ( $H_1$ ) la administración crónica de  $\beta$ -bloqueantes puede reducir el riesgo de aparición de complicaciones cardiovasculares y no cardiovasculares en el perioperatorio de cirugía mayor no cardíaca.
- **Hipótesis alternativa** ( $H_2$ ): el tratamiento crónico con  $\beta$ -bloqueantes aumenta el riesgo de aparición de complicaciones cardiovasculares y no cardiovasculares.
- **Hipótesis nula** ( $H_0$ ): el tratamiento crónico con  $\beta$ -bloqueante no influye en la aparición de complicaciones perioperatorias.

## 2.2. OBJETIVOS

A la vista de los interrogantes existentes sobre el uso de  $\beta$ -bloqueantes en pacientes sometidos a cirugía no cardíaca, este trabajo de investigación se ha orientado hacia los siguientes objetivos:

- **Objetivo principal.-** Analizar la influencia del tratamiento crónico con  $\beta$ -bloqueantes en la aparición de complicaciones cardíacas (arritmias, infarto agudo de miocardio) durante el periodo perioperatorio.
- **Objetivos secundarios:**
  - (i) Evaluar la influencia del tratamiento  $\beta$ -bloqueante crónico en la aparición de complicaciones no cardiovasculares.
  - (ii) Valorar la influencia de este tratamiento sobre la estancia y mortalidad postoperatorias.

### ***3. MATERIAL Y MÉTODOS***

### 3.1 DISEÑO

Se ha realizado un estudio clínico observacional y retrospectivo, con una cohorte consecutiva de 80 pacientes ingresados en la unidad de Cuidados Postquirúrgicos (UCQ) del hospital Saint George's de Londres tras ser sometidos a cirugía mayor no cardíaca durante el periodo del 1 de abril al 31 de agosto del 2011 y que, posteriormente, fueron seguidos evolutivamente hasta su alta hospitalaria/fallecimiento. Los datos de los pacientes fueron recogidos y analizados por la doctoranda durante su periodo de rotación externa en dicho hospital (1 de Mayo al 31 de Julio del 2014), en el marco del programa de formación MIR. La obtención de los datos requirió la autorización expresa del Director Médico del hospital, Dr. Mac Kenzie, y del tutor encargado de investigación de los fellowship en la Unidad de UCQ, el Dr. Maurizio Cecconi. Los pacientes fueron distribuidos en dos grupos:

- a) Grupo de casos.- Constituido por los pacientes que desarrollaron algún tipo complicación cardiovascular y/o no-cardiovascular durante el periodo perioperatorio.
- b) Grupo de controles.- Constituido por los pacientes que no desarrollaron complicación cardiovascular y/o no-cardiovascular durante el periodo perioperatorio.

Se compararon las características basales y se evaluó la posible asociación del tratamiento  $\beta$ -bloqueante con la aparición de complicaciones perioperatorias, la duración de estancia hospitalaria y la tasa de mortalidad.

Los criterios de inclusión en el estudio fueron los siguientes:

- Pacientes con edad comprendida entre 18 y 90 años.
- Estancia de un mínimo de 24 horas en la UCQ.
- Procedencia de quirófanos de cirugía mayor, con un tiempo de anestesia igual o superior a 60 minutos (Cirugía General, Urología, Traumatología, Otorrinolaringología, Cirugía Maxilofacial y Cirugía Vascular).
- Haber sido incluido en protocolo asistencial de la UCQ de terapia guiada por objetivos ("GDT" ó *goal directed therapy*), que persigue mantener una cifra global de aporte de oxígeno tisular (DI02) por encima de 600 ml/min.m2 (más información en *Anexo 2*).

Por otro lado, se establecieron los siguientes criterios de exclusión:

- Historia de interrupción brusca o tratamiento agudo con  $\beta$ -bloqueantes (inicio terapia < de 1 mes)
- Gestantes
- Infección VIH activa
- Enfermedad tumoral diseminada o enfermedad terminal
- Antecedentes de evento cardiovascular agudo (IAM, ACV) en el mes previo a la cirugía.
- Antecedentes de hospitalización por descompensación de insuficiencia cardíaca (ICC) o arritmia grave en el mes previo a la cirugía.
- Historia de infección grave o neumonía comunitaria/adquirida en el hospital en el mes previo a la cirugía.
- Episodio de insuficiencia renal aguda 15 días previos a cirugía
- Historia de hemofilia o coagulopatía conocida

## 3.2. INTERVENCIÓN

### 3.2.1 Tratamiento $\beta$ -bloqueante:

Los pacientes pertenecientes al grupo de tratamiento  $\beta$ -bloqueante debían haber consumido el fármaco un mínimo de 1 mes antes de la intervención, manteniendo dicho tratamiento hasta el mismo día de la misma. Posteriormente, se reintroducía el tratamiento en la UCQ/en planta según la práctica clínica habitual (inicio a dosis bajas y con titulación de dosis para mantener una FC entre 60-70 lpm y unas TAS>100 mmHg).

### 3.2.2 Fluidoterapia guiada por objetivos:

**a) Definición de cifra global de aporte de oxígeno tisular (DI<sub>O<sub>2</sub></sub>)**.- Es el aporte de oxígeno por unidad de tiempo a los tejidos, indexado por la superficie corporal de cada paciente. Los valores normales son 520-720 ml/min/m<sup>2</sup>. El DI<sub>O<sub>2</sub></sub> se calcula gracias a las siguientes fórmulas:

$$DI0_2 = GC \text{ (L/min)} \times Ca0_2 \text{ (mL/dL)}.$$

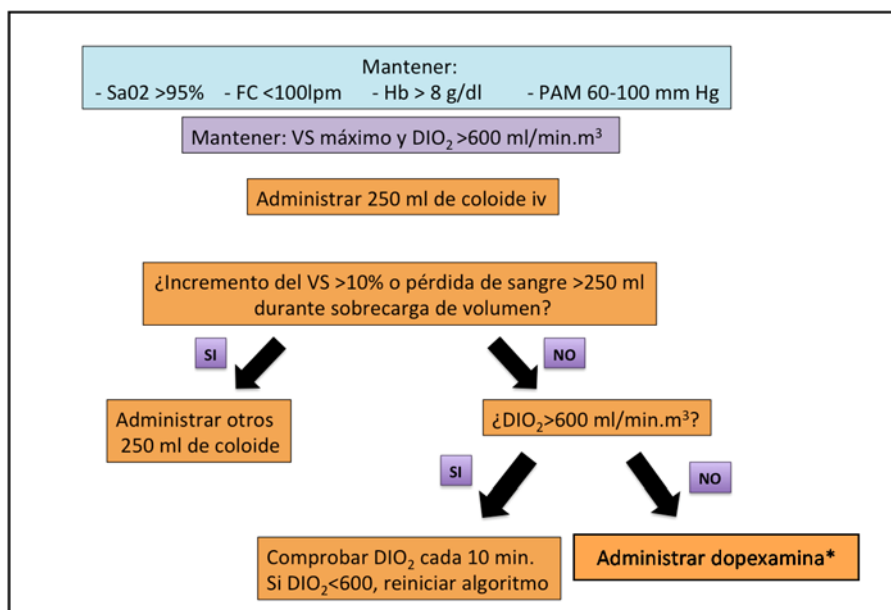
$$Ca0_2 = Hb \times 1,34 \times Sat0_2 + Pa0_2 \times 0,003$$

En donde: GC= *gasto cardiaco*.  $Ca0_2$ = *el contenido arterial de oxígeno*; Hb= *hemoglobina*.  $Sat0_2$ =  *saturación arterial de oxígeno*.  $Pa0_2$ = *Presión parcial de oxígeno arterial*.

**b) “Fluid challenge” o prueba de volumen.-** Se basa en la administración de fluidos intravenosos (en nuestro estudio 250 ml de coloide) en 5-10 min con el fin de mejorar la perfusión tisular.

**c) Algoritmo de fluidoterapia guiada por objetivos (FGO).**- Todos los pacientes incluidos en el estudio siguieron una terapia con fluidos intravenosos y/o inotrópicos (Dopexamina) guiada por un algoritmo de manejo hemodinámico que tiene por objetivo conseguir un valor de aporte de oxígeno tisular ( $DI0_2$ ) por encima de 600 ml/min.m<sup>3</sup> (Fig. 27). Durante la primera hora de la intervención, este protocolo pretende conseguir el aumento del volumen sistólico (VS) con la administración única de un coloide (gelatina/hidroxietilalmidón). Si con ello no se logra aumentar el VS, ni tampoco se consigue el objetivo de  $DI0_2$ , se administrará dopexamina en perfusión continua (dosis inicial 500 ng/kg/min, pudiendo incrementarse a 1 µg/kg/min hasta 6 µg/kg/min) a través de un catéter venoso central. La administración y dosificación de este inotrópico se titula en función de la FC y la TA. Si este último tratamiento consigue aumentar el VS y la FC aumenta más de un 25% de la basal, se procede a la desconexión inmediata del fármaco vasoactivo. En el resto de casos, pasadas las primeras 6 horas de postoperatorio, la dopexamina se retirará progresivamente en el periodo de una hora. La monitorización del GC no se empleaba de manera generalizada, solo en casos muy concretos de deterioro agudo del paciente y a criterio del médico responsable. Los parámetros hemodinámicos fueron periódicamente registrados y los valores de  $DIO_2$ , desde el inicio hasta el final del protocolo.





**Figura 27.-** Protocolo de “Fluidoterapia guiada por objetivos” utilizado en nuestro estudio.  
 [\*Excepciones para recomendar la administración de dopexamina: alteraciones ST, taquicardia o arritmias]  
 (Adaptado de Cecconi M. Et al, 2011).

### 3.3. VARIABLES

Las variables recogidas en el presente estudio fueron las siguientes:

- Antropométricas (edad, sexo, peso, altura, índice de masa corporal ó IMC).
- Tabaquismo.
- Tratamiento crónico preoperatorio con fármacos relacionados con patología cardiovascular:
  - Antihipertensivos:  $\beta$ -bloqueantes y tipo de  $\beta$ -bloqueante, inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina (IECA), inhibidores de los receptores de la angiotensina II (ARA-II),  $\alpha$ -bloqueantes, diuréticos, calcio-antagonistas, nitratos.
  - Estatinas.
  - Antidiabéticos orales (ADO).
  - Antiagregantes plaquetarios: aspirina, clopidogrel o ambos.
  - Anticoagulantes orales: fundamentalmente warfarina.
- Comorbilidades: hipertensión arterial, cardiopatía isquémica, insuficiencia cardiaca (IC), arritmia, valvulopatía, insuficiencia renal crónica (IRC), asma, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), diabetes, accidente cerebrovascular (ACVA) y vasculopatía periférica.

- Intervención: tipo de procedimiento, duración de la intervención, especialidad, condición de urgencia/programada.
- Intraoperatorio: presión arterial sistólica (PAS), presión arterial diastólica o (PAD) y saturación periférica de oxígeno (SatO<sub>2</sub>) al inicio de la cirugía, desarrollo de hipotensión (TAS < 80 mm Hg) o desaturación (SatO<sub>2</sub> < 90%) a lo largo de la intervención.
- Complicaciones que se desarrollaron durante el postoperatorio: hasta fallecimiento o alta hospitalaria (especificadas en el *Anexo 1*).
- Criterios de gravedad: *Acute Physiology and Chronic Health Evaluation II* o APACHE 2 (definido en *Anexo 1*), número de complicaciones, días de estancia en UCQ y hospitalaria, tasas de mortalidad en UCI y mortalidad global hospitalaria.
- Variables relacionadas con el protocolo de fluidoterapia guiada por objetivos o “goal directed therapy, GDT” (definido en el *Anexo 2*): DI02 > 600 al ingreso (definido en *Anexo 2*), número de horas con DI02 > 600 ml/min.m<sup>2</sup>, balance hídrico, niveles de lactato y bicarbonato al ingreso en UCI, variación de lactato y bicarbonato durante la estancia en UCI, dosis máxima de dopexamina administrada (mcg/kg/min), número de “fluid challenges” o prueba de volumen, y tiempo empleado desde que ingresa el paciente en UCI hasta que se inicia la fluidoterapia.

### **3.4 MÉTODO ESTADÍSTICO**

Los resultados de la estadística descriptiva se expresaron como media y desviación típica (DE) en el caso de las variables cuantitativas; en el caso de las variables cualitativas, se expresaron como porcentaje. En aquellas variables cuantitativas que no se ajustaron a una distribución normal, se utilizó la mediana y el rango intercuartílico. En el análisis de la asociación estadística entre variables se emplearon diferentes tests de contraste de hipótesis, según las variables comparadas. En el caso de variables cualitativas normales, se utilizó el test de Chi cuadrado ( $\chi^2$ ); en aquellas variables donde, por la escasa muestra nos encontramos con una o más casillas con menos de cinco individuos, se utilizó la prueba exacta de Fisher. Para estudiar la asociación de variables normales cualitativas dicotómicas y cuantitativas, se utilizó la t de Student para grupos independientes. Para el análisis entre variables cuantitativas que no seguían la normalizada, se usó el test de la U de Mann-Whitney. Se consideraron como estadísticamente significativo los resultados con una  $p < 0,05$ .

## ***4. RESULTADOS***

## 4.1. CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS DE LA COHORTE

Los 80 pacientes sometidos a cirugía fueron distribuidos para el análisis en dos grupos: a) grupo de exposición, constituido por 14 pacientes bajo tratamiento crónico con  $\beta$ -bloqueante ( $\beta$ B) antes y después de la intervención y b) grupo control, conformado por 66 pacientes sin tratar con estos fármacos (no  $\beta$ B).

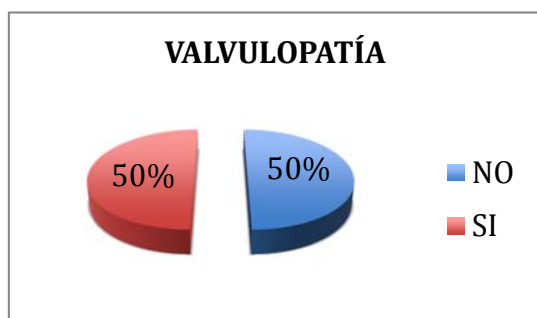
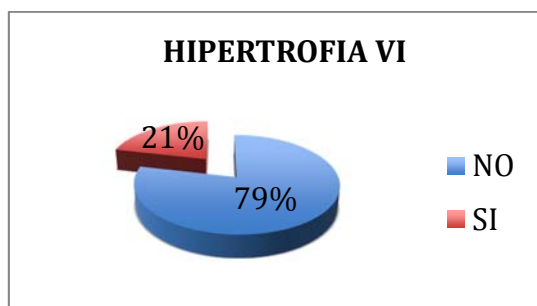
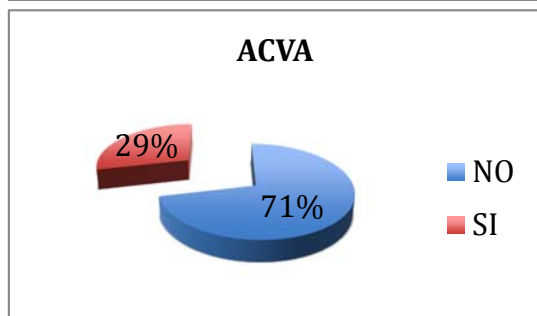
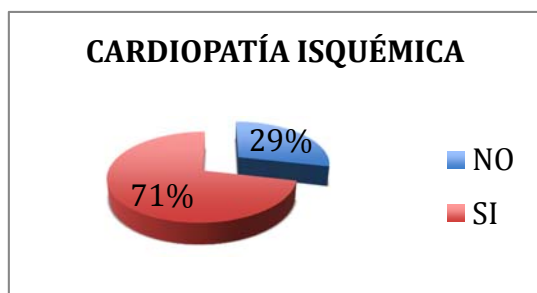
Las características antropométricas, tipo de comorbilidades y tratamientos recibidos en los dos grupos de pacientes se recogen en la Tabla 22. La edad media en el grupo de exposición a tratamiento  $\beta$ -bloqueante fue 14 años superior a la del grupo no expuesto ( $p < 0,014$ ). En cuanto a los factores clásicos de riesgo cardiovascular, en el grupo expuesto se observó una mayor prevalencia de HTA ( $p < 0,01$ ) y de hipercolesterolemia ( $p < 0,03$ ), sin encontrarse diferencias significativas en cuanto a la prevalencia de obesidad, tabaquismo o diabetes mellitus. Por otro lado, en el grupo expuesto se encontró una prevalencia, significativamente mayor, de la practica totalidad de comorbilidades cardiovasculares: hipertrofia ventricular izquierda ( $p < 0,02$ ), cardiopatía isquémica ( $p < 0,0001$ ), insuficiencia cardíaca ( $p < 0,001$ ), fibrilación auricular ( $p < 0,003$ ), valvulopatía ( $p < 0,008$ ) ó ACVA ( $p < 0,03$ ) (Fig. 28). No hubo, en cambio, diferencias en la prevalencia de insuficiencia renal crónica ni de arteriopatía periférica entre ambos grupos. En conjunto, el promedio de comorbilidades cardiovasculares fue muy superior en el grupo tratado con  $\beta$ -bloqueante (4,4 por paciente) que en el grupo no tratado (1,4 por paciente;  $p < 0,0001$ ).

Con respecto al tratamientos seguido por los pacientes previamente a la cirugía, 38 pacientes (47,5%) recibían algún fármaco antihipertensivo [23 pacientes (28,7%) en régimen de monoterapia, 8 pacientes (10%) en terapia doble y 7 pacientes (8,8%) con tres o más fármacos]. La distribución del tipo de fármacos antihipertensivos y del tipo de  $\beta$ -bloqueante empleados se muestra en las Figuras 29 y 30. El grupo farmacológico más utilizado fue el de los IECAS (23,8%, 19 pacientes), seguido por los calcio-antagonistas (18,8%, 15 pacientes), los diuréticos (18,8%, 15 pacientes), los  $\beta$ -bloqueantes (17,5%, 14 pacientes), los nitratos (10%, 8 pacientes), los  $\alpha$ -bloqueantes (3,8%, 3 pacientes) y los ARA-II (3,8%, 3 pacientes). La distribución del consumo de  $\beta$ -bloqueante fue la siguiente: 7 pacientes bisoprolol (8,8%), 4 atenolol (5%), 2 carvedilol (2,5%) y 1 paciente propanolol (1,3%). Dentro el grupo de pacientes expuestos a  $\beta$ -bloqueantes, el 78% (11 pacientes) tenían 2 o más factores de riesgo cardiovascular, y el 85% (12 pacientes) tenían antecedentes de accidente isquémico tromboembólico (en forma de IAM ó ACVA).

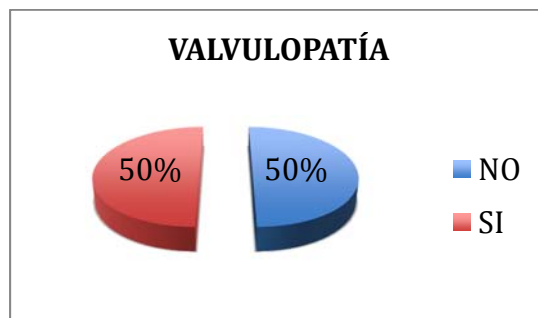
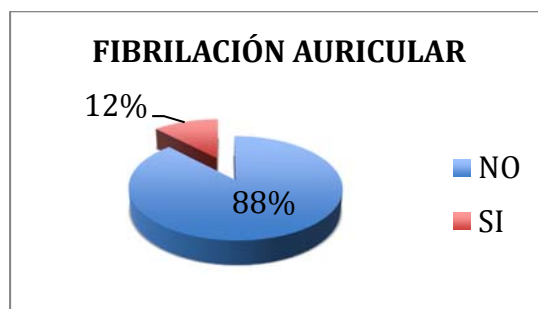
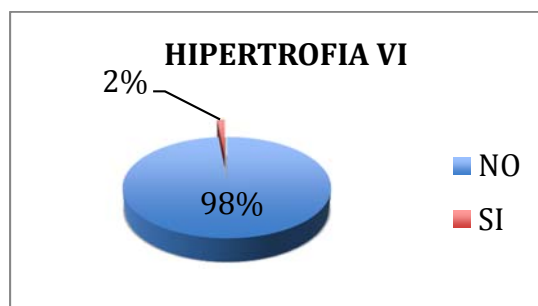
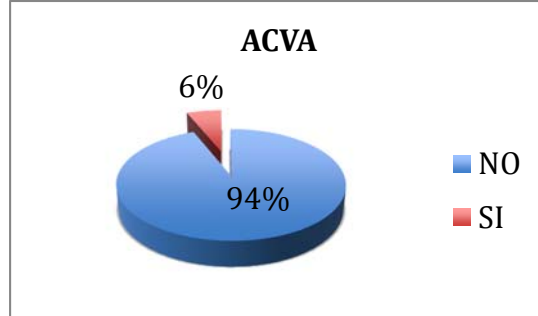
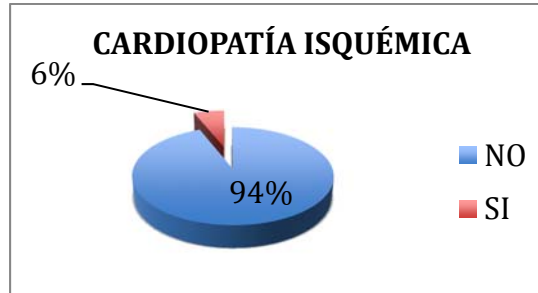
**Tabla 22.-** Datos clínicos basales del estudio. (*Comorbilidad CV: comorbilidad cardiovascular. Promedio CCV/pt = promedio de comorbilidades cardiovasculares por paciente. ADO= Antidiabéticos orales. HVI= hipertrofia ventricular izquierda. IRC= insuficiencia renal crónica*) \*p estadísticamente significativa.

	<b>Pacientes CON βB (n=14)</b>	<b>Pacientes SIN βB (n=66)</b>	<b>p</b>
<b>Edad (años)</b>	76,29 ± 11,3	61,98 ± 20,38	0,014*
<b>Varones</b>	10/14 (71,4%)	33/66 (50%)	0,24
<b>IMC (kg/m<sup>2</sup>)</b>	27,23 ± 4,81	26,06 ± 4,91	0,43
<b>Factores de riesgo CV:</b>			
-Tabaquismo	5/14 (35,7%)	16/66 (24,24%)	0,50
-HTA	12/14 (85,7%)	28/66 (42,4%)	0,006*
-Diabetes mellitus	5/14 (35,7%)	10/66 (15,1%)	0,12
-Hipercolesterolemia	8/14 (57,1%)	17/66 (25,7%)	0,03*
<b>Morbilidad CV:</b>			
- HVI	3/14 (21,4%)	1/66 (1,5%)	0,016*
- Arritmias	8/14 (57,14%)	9/66 (13,6%)	0,001*
- F. auricular	7/14 (50%)	8/66 (12,1%)	0,003*
- Bloqueo AV	1/14 (7,1%)	1/66 (1,5%)	0,32
- C. isquémica	10/14 (71,4%)	4/66 (6%)	0,0001*
- IC	5/14 (35,7%)	2/66 (3%)	0,001*
- Valvulopatía	7/14 (50%)	10/66 (15,1%)	0,008*
- ACVA	4/14 (28,6%)	4/66 (6%)	0,028*
- Vasc.periférica	2/14 (14,2%)	7/66 (10,6%)	0,65
- Promedio CCV/pt	4,43 ± 1,87	1,41 ± 1,68	0,0001*
<b>Otras Comorbilidades</b>			
- EPOC	2/14 (14,2%)	11/66 (16,67%)	1,00
- Asma	1/14 (7,1%)	1/66 (1,5%)	0,32
- IRC	4/14 (28,6%)	9/66 (13,6%)	0,23
<b>Tratamiento crónico</b>			
- Diuréticos	4/14 (28,6%)	11/66 (16,67%)	0,28
- Calcio-antagonistas	3/14 (21,4%)	12/66 (18,1%)	0,72
- IECAs	6/14 (42,8%)	13/66 (19,69%)	0,08
- ARA-II	2/14 (14,2%)	1/66 (1,5%)	0,08
- α- bloqueantes	2/14 (14,2%)	1/66 (1,5%)	0,08
- Nitrato	6/14 (42,8%)	2/66 (3,1%)	0,0001*
- Antiagregantes:	11/14 (78,5%)	7/66 (10,6%)	0,0001*
Aspirina	8/14 (57,1%)	5/66 (7,5%)	0,0001*
Clopidogrel	2/14 (14,3%)	2/66 (3%)	0,13
Doble AA	1/14 (7,14%)	0/66 (0%)	0,17
- Warfarina	4/14 (28,6%)	5/66 (35,7%)	0,045*
- ADO	4/14 (28,6%)	8/66 (12,1%)	0,20
- Estatinas	8/14 (57,1%)	17/66 (25,7%)	0,03*

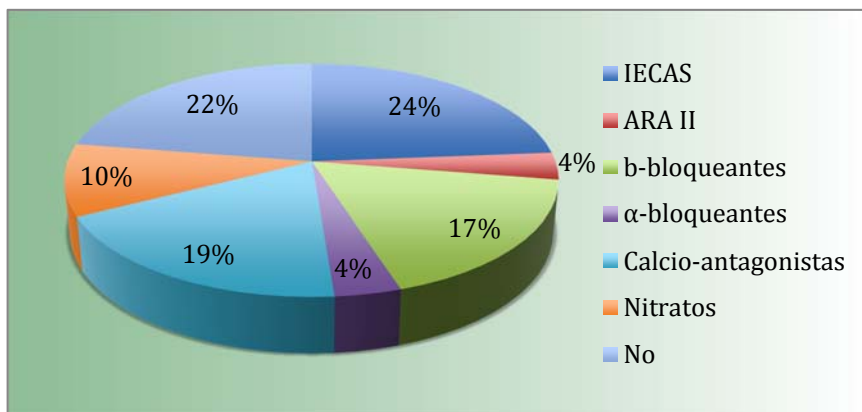
### EXPOSICIÓN A $\beta$ B



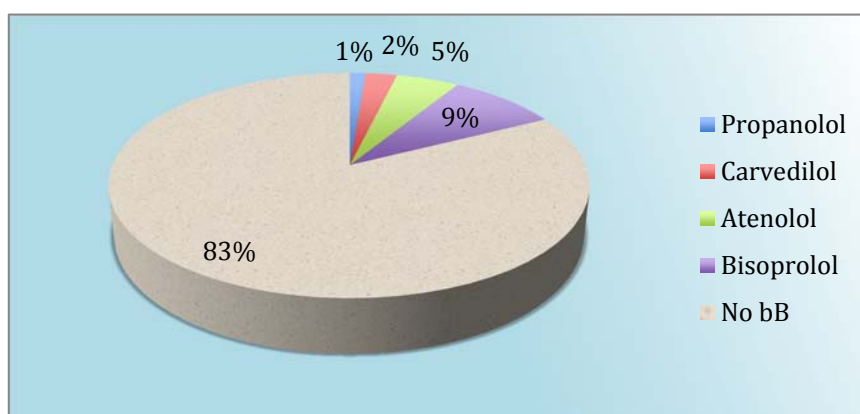
### NO EXPOSICIÓN A $\beta$ B



**Figura 28.-** Distribución de la morbilidad cardiovascular en la población de estudio en función de la exposición o no a  $\beta$ -bloqueantes ( $\beta$ B).



**Figura 29.-** Tratamiento antihipertensivo seguido por los pacientes previamente a la cirugía



**Figura 30.-** Consumo de β-bloqueantes por los pacientes del estudio.

En cuanto a las terapias no antihipertensivas seguidas por los pacientes, 25 pacientes (31,3%) recibían estatinas, 12 (15%) antidiabéticos orales, 9 (11,3%) anticoagulantes orales y 18 (22,5%) antiagregantes plaquetarios [13 pacientes (16,25%) monoterapia con aspirina, 4 pacientes (5%) clopidogrel y 1 paciente (1,25%) doble antiagregación (aspirina + clopidogrel)].

## 4.2. INTRAOPERATORIO

Previamente a su admisión en la UCQ, todos los pacientes fueron intervenidos en un quirófano de Cirugía Mayor, 33 de ellos (41,3%) con carácter urgente. El tiempo medio de duración de la intervención quirúrgica fue de  $1 \text{ h} \pm 45 \text{ min}$ , y la procedencia de los pacientes fue la siguiente: 42 pacientes (52,5%) procedían de un quirófano de Cirugía General o Urología, 20 pacientes (25%) fueron intervenidos en Traumatología, 9 pacientes (11,3%) en un quirófano de Cirugía Vascular, y 9 pacientes (11,3%) procedían de un quirófano de Otorrinolaringología/Cirugía Maxilofacial.

Al llegar a quirófano, se observaron los siguientes valores medios de constantes vitales: tensión arterial sistólica media (TASm)  $130 \pm 18,77$  mm Hg ( $X \pm DS$ ), tensión arterial diastólica media (TADm)  $67 \pm 7,32$  mm Hg, frecuencia cardíaca (FC) media  $81 \pm 11,5$ , saturación arterial de oxígeno periférica (SatO<sub>2</sub>) media  $98 \pm 1,56\%$ . La fracción inspirada de oxígeno (FiO<sub>2</sub>) media, registrada en la mayoría de los pacientes, fue del 50%. Se detectaron 7 casos de hipotensión o TAS <80 mm Hg (8,8 %), todos ellos fácilmente reversibles de forma espontánea o mediante empleo de dosis bajas de vasoconstrictor (la dosis máxima intravenosa de efedrina administrada fue de 20 mg y la dosis mínima de 5 mg). No hubo ningún caso de desaturación grave ó caída de SatO<sub>2</sub> <90%. En doce pacientes (15%) se detectó una hemorragia intraoperatoria mayor de 500 ml, y solo un paciente sufrió una hemorragia mayor de 1 litro. Intraoperatoriamente, no se encontraron diferencias en los parámetros hemodinámicos (FC basal, TAS basal, TAD basal, hipotensión intraoperatoria, sangrado intraoperatorio, láctico al final de la intervención) ni de oxigenación (SatO<sub>2</sub> basal, desaturación intraoperatoria) entre el grupo expuesto a  $\beta$ -bloqueante y el no expuesto (Tabla 20).

### **4.3. POSTOPERATORIO**

La situación funcional de los pacientes en el periodo del postoperatorio inmediato fue evaluada mediante la escala APACHE-II (“Acute Physiology and Chronic Health Evaluation-II”), y el riesgo operatorio mediante la escala SAS (“Surgical Apgar Score”) (ver ambas en *Anexo 2*). El índice APACHE-II medio durante las primeras 24 horas de estancia en la UCQ fue bajo: 12,91 de media ( $\pm 4,86$  de DS) y sólo 7 pacientes (8,8%) presentaron un APACHE-II igual o superior a 20. Por otro lado, el valor medio del índice APACHE-II fue significativamente mayor en el grupo expuesto ( $15,36 \pm 1,59$ ) en comparación con el grupo no expuesto a tratamiento  $\beta$ -bloqueante ( $12,29 \pm 5,55$ ;  $p=0,04$ ). Sin embargo, no se encontraron diferencias de puntuación en la escala SAS entre los dos grupos (Tabla 23).

Durante las seis primeras horas de postoperatorio en UCQ, se aplicó el protocolo de FGO en todos los pacientes. La mayoría de ellos (79/80 pacientes) precisó FGO durante el postoperatorio inmediato, con un intervalo medio de espera desde el ingreso en UCQ hasta el inicio de la sobrecarga de volumen de unos 55,18 minutos ( $\pm 34,17$  minutos de DS). En 44 pacientes (55%) fue necesario administrar 3 o más sobrecargas de volumen ( $\geq 750$ ml de coloide



o cristaloides), y 15 pacientes (18,7%) requirieron perfusión continua de dopexamina, siendo la dosis media administrada de 0,41  $\mu\text{g/kg/min}$  ( $\pm 0,45$  de DS). La mayoría de la población estudiada presentó buenas condiciones de oxigenación [69 pacientes (86,3% del total) con  $\text{DIO}_2 \geq 460 \text{ ml/min.m}^2$ ] y de perfusión tisular [67 pacientes (83,3% del total) con niveles plasmáticos de ácido láctico  $< 3 \text{ mmol/L}$ ]. No se detectaron diferencias entre los dos grupos con respecto al aporte global de oxígeno tisular ( $\text{DIO}_2$ ), el número de sobrecargas de volumen y la dosis máxima de dopexamina administrada (ver Tabla 23).

La estancia media en la UCQ fue de 3,9 días y la estancia hospitalaria total de 22,9 días. En cuanto a las complicaciones postoperatorias observadas desde el ingreso en UCI hasta el alta hospitalaria, 42 pacientes (52,5%) sufrieron algún tipo de complicación y 30 pacientes (37,5%) sufrieron dos o más complicaciones (Tabla 23). En 22 pacientes (27,5%) aparecieron complicaciones cardiovasculares, con la siguiente distribución: 6 pacientes IAM y 16 con taquicardia supraventricular. Dieciséis pacientes (20%) presentaron complicaciones neurológicas: 1 paciente con ACVA y 16 síndrome confusional agudo (SCA). Otras complicaciones observadas fueron las siguientes: 16 pacientes (20,3%) insuficiencia renal aguda, 15 pacientes (18,8%) complicaciones respiratorias [14 en forma de IOT prolongada y 1 paciente reintubación], y 11 pacientes (13,9%) infección de herida quirúrgica. En 11 pacientes (13,8%) aparecieron infecciones graves (2 sepsis, 5 infección del tracto urinario ó ITU y 4 neumonía), 10 pacientes (12,5%) presentaron alguna complicación digestiva aguda (8 hemorragia digestiva aguda, 2 obstrucción intestinal), 8 pacientes (10,1%) sufrieron dehiscencia de la sutura de herida quirúrgica y otros 8 requirieron transfusión de, al menos, un concentrado de hematíes por anemia (ver Tabla 23).

**Tabla 23.-** Datos clínicos del periodo postoperatorio. *Todos los valores expresados en media  $\pm$  ESM; excepción: \$ Test de Mann-Whitney (mediana  $\pm$  rango intercuartílico). \*  $p < 0,05$ .*

	<b>Expuestos a <math>\beta</math>B (n=14)</b>	<b>No expuestos a <math>\beta</math>B (n=66)</b>	<b>p</b>
<b>Cirugía</b>			
Urgente	6/14 (42,8%)	27/66 (40,9%)	1,00
SAS score	4 $\pm$ 0,1	3,62 $\pm$ 0,9	0,51
<b>Intraoperatorio</b>			
TAS basal	128 $\pm$ 19,79	130 $\pm$ 18,69	0,72
TAD basal	66,29 $\pm$ 7,8	67,82 $\pm$ 7,25	0,48
SatO <sub>2</sub> basal	98,29 $\pm$ 1,72	98,48 $\pm$ 1,53	0,72
Hipotensión grave	1/14 (7,1%)	6/66 (9%)	1,00
Lactato final > 3	1/14 (7,1%)	12/66 (18,1%)	0,44
<b>Evolución</b>			
APACHE II (24 h UCQ)	15,36 $\pm$ 1,59	12,29 $\pm$ 5,55	0,04*
Máxima dosis dopexamina (ug/kg/min)	0,23 $\pm$ 0,39	0,45 $\pm$ 0,46	0,1
DIO <sub>2</sub> > 600 (< ml/min/m <sup>2</sup> )	5/14 (35,7%)	35/66 (53%)	0,09
Sobrecarga vol > 500 ml	8/14 (57%)	36/66 (54,7%)	0,19
Promedio sobrecargas de volumen	2,93 $\pm$ 1,85	3,09 $\pm$ 1,65	1,00
Estancia UCQ	1 $\pm$ 2 \$	1 $\pm$ 1 \$	0,71
Estancia hospitalaria total	16 $\pm$ 51 \$	14 $\pm$ 18 \$	0,72
<b>Complicaciones</b>			
- Promedio complicaciones	1,57 $\pm$ 1,55	1,27 $\pm$ 1,71	0,34
- <u>Cardiovascular</u>	7/14 (50%)	15/66 (22,7%)	0,51
▪ IAM	1/14 (7,1%)	4/66 (6,06%)	1,00
▪ Fibrilación/Flutter A	6/14 (42,8%)	10/66 (15,15%)	0,03*
- <u>Renales</u>			
▪ IR (FG < 60 ml/min/m <sup>2</sup> )	3/14 (21,4%)	13/66 (19,7%)	1,00
- <u>Respiratorias</u>	3/14 (21,43%)	12/66 (18,18%)	0,72
▪ IOT prolongada	3/14 (21,43%)	11/66 (16,7%)	0,70
▪ Reintubación/VMNI	0/14 (0%)	1/66 (1,5%)	1,00
- <u>Neurológicas</u>	2/14 (14,3%)	14/66 (21,2%)	0,72
▪ ACVA	0/14 (0%)	1/66 (1,5%)	1,00
▪ Síndrome confusional	2/14 (14,3%)	13/66 (19%)	1,00
- <u>Gastrointestinales</u>	1/14 (7,1%)	9/66 (13,6%)	0,68
▪ Hemorragia digestiva	1/14 (7,1%)	7/66 (10,6%)	1,00
▪ Otras	0/14 (0%)	2/66 (3,03%)	1,00
- <u>Infecciones</u>	3/14 (21,4%)	8/66 (12,12%)	0,4
▪ Sepsis	1/14 (7,1%)	1/66 (1,05%)	0,32
▪ Neumonía nosocomial	2/14 (14,3%)	7/66 (10,6%)	0,65
- <u>Herida quirúrgica</u>	0/14 (0%)	11/66 (16,7%)	0,20
▪ Dehiscencia	0/14 (0%)	8/66 (12,1%)	0,34
▪ Infección de pared	0/14 (0%)	3/66 (6,08%)	1,00
- <u>Necesidad de transfusión</u>	3/14 (21,4%)	5/66 (7,6%)	0,14
<b>Mortalidad en UCQ</b>	1/14 (7,1%)	1/66 (1,5%)	0,32
<b>Mortalidad hospitalaria</b>	1/14 (7,1%)	3/66 (4,5%)	0,54

Con respecto al objetivo primario de este trabajo, prevalencia de complicación cardiovascular (IAM + arritmia perioperatoria), no se observaron diferencias entre los dos grupos (Tabla 23). La prevalencia de IAM en el postoperatorio en el grupo de expuestos al  $\beta$ -bloqueante (1/14 pacientes) fue similar a la observada en el grupo no expuesto (4/66 pacientes). El riesgo de presentar un episodio de taquicardia supraventricular durante el postoperatorio fue mayor en el grupo de expuestos (odds ratio [OR]= 4,2; IC 95%: 1,2-14,7). Con respecto a los objetivos secundarios, la prevalencia de complicaciones no cardiovasculares (neurológicas, respiratorias, renales, infecciosas, gastrointestinales, de la herida quirúrgica o de necesidad transfusional) fue similar entre ambos (Tabla 23). Tampoco se observaron diferencias entre los grupos en cuanto a la estancia en UCQ, estancia hospitalaria total, ni en la mortalidad en la UCQ ni en la mortalidad global.

En esta serie, 11 de los 14 pacientes tratados con  $\beta$ -bloqueantes recibían bloqueantes selectivos de los receptores  $\beta_1$  (7 tomaban bisoprolol y 4 atenolol), es decir eran fármacos con el mismo mecanismo de acción que el esmolol, fármaco de nuestro estudio experimental. En línea con este hecho, hemos analizado los datos de los dos grupos de pacientes con exclusión de 3 pacientes que tomaban un  $\beta$ -bloqueante no cardiosectivo (1 paciente propanolol, 2 pacientes carvedilol). De este modo, comparamos los resultados obtenidos en el subgrupo de los 11 casos que recibieron bloqueantes- $\beta_1$  frente a los 66 del grupo no tratado. Los resultados obtenidos en el postoperatorio fueron muy similares a los anteriormente mencionados en términos de morbilidad, estancia en UCQ y hospitalaria total, y mortalidad (Tabla 24).

Como resumen de los resultados obtenidos, podemos resaltar que el grupo de pacientes tratados con  $\beta$ -bloqueantes presentaban de base un mayor riesgo preoperatorio, es decir mayor edad, más factores de riesgo cardiovascular y más antecedentes tromboembólicos, aunque la incidencia de complicaciones cardiovasculares durante el perioperatorio fue similar a la observada en el grupo control. Tampoco se observaron diferencias significativas en la incidencia de complicaciones no cardiovasculares, estancia media en UCQ, estancia hospitalaria o mortalidad entre los dos grupos.

**Tabla 24.-** Análisis comparativo de los datos clínicos del subgrupo tratado con bloqueantes cardiosselectivos  $\beta_1$  ( $\beta_1B$ ) y del subgrupo no tratado. *Valores son media  $\pm$  EEM; excepción: § Test de Mann-Whitney (mediana  $\pm$  rango intercuartílico). \*  $p < 0,05$*

	<b>Expuestos a <math>\beta_1B</math> (n=11)</b>	<b>No expuestos a <math>\beta_1B</math> (n=66)</b>	<b>p</b>
APACHE II (24 h UCQ)	15,64 $\pm$ 5,31	12,39 $\pm$ 4,48	0,58
Máxima dosis dopexamina	0,29 $\pm$ 0,43	0,45 $\pm$ 0,46	0,42
DIO <sub>2</sub> > 600 ( ml/min/m <sup>2</sup> )	3/11 (27,3%)	35/66 (53%)	1,92
Promedio sobrecargas vol	2,91 $\pm$ 1,37	3,09 $\pm$ 1,69	0,39
Promedio de complicaciones	1,55 $\pm$ 1,63	1,27 $\pm$ 1,71	0,21
Complicación CV:			
- IAM	0/11 (0%)	4/66 (6,1%)	1,00
- FA	5/11 (45,5%)	10/66 (15,2%)	0,033*
Insuficiencia renal	3/11 (27,3%)	13/66 (19,7%)	0,68
Complicación respiratoria			
- IOT prolongada	3/11 (27,3%)	11/66 (16,7%)	0,41
- Reintubación/VMNI	0/11 (0%)	1/66 (1,5%)	1,00
Complicación neurológica			
- ACVA	0/11 (0%)	1/66 (1,5%)	1,00
- SCA	2/11 (18,2%)	13/66 (19,7%)	1,00
Complicación GI			
- HDA	1/11 (9,1%)	7/66 (10,6%)	1,00
- Otros	0/11 (0%)	2/66 (3%)	1,00
Complicación infecciosa			
- Sepsis	1/11 (9,1%)	1/66 (1,5%)	0,26
- Neumonía	0/11 (0%)	7/66 (10,6%)	0,58
Compl. herida quirúrgica			
- Dehiscencia	0/11 (0%)	8/66 (12,1%)	0,59
- Infección	0/11 (0%)	3/66 (4,5%)	1,00
Necesidad transfusional	2/11 (18,2%)	5/66 (7,6%)	0,26
Estancia UCQ	1 $\pm$ 4 <sup>§</sup>	1 $\pm$ 1 <sup>§</sup>	0,83
Estancia hospitalaria	14 $\pm$ 46 <sup>§</sup>	14 $\pm$ 12 <sup>§</sup>	0,92
Mortalidad UCQ	1/11 (9,1%)	1/66 (1,5%)	0,26
Mortalidad hospitalaria	1/11 (9,1%)	3/66 (4,5%)	0,47

## ***5. DISCUSIÓN***

En diversos estudios publicados durante las dos últimas décadas (209-212, 215, 216, 245) se ha demostrado que el uso de fármacos  $\beta$ -bloqueantes antes de la intervención quirúrgica reduce el riesgo de desarrollar IAM perioperatorio. Entre los mecanismos implicados en este efecto beneficioso, estaría la capacidad que presentan algunos de estos fármacos para revertir el remodelado cardíaco (15, 181, 198). El remodelado cardíaco y vascular inducido por la hipertensión arterial, la diabetes o la hipercolesterolemia, es un predictor de riesgo de desarrollar un evento cardiovascular (67, 233). Todos los fármacos  $\beta$ -bloqueantes han demostrado producir regresión del remodelado en un periodo de tratamiento superior a los 6 meses (234), a excepción del esmolol que lo hace más rápido de acuerdo a nuestros resultados experimentales.

Los datos de nuestro estudio clínico muestran que el tratamiento crónico con  $\beta$ -bloqueantes no modificó el riesgo de desarrollar un IAM perioperatorio, a pesar de que los pacientes expuestos a esta medicación presentaban una mayor comorbilidad cardiovascular con respecto al grupo control (4,4 *versus* 1,4 comorbilidades cardiovasculares/paciente, respectivamente;  $p < 0,001$ ). Estas diferencias en las características basales de ambos grupos de estudio (expuestos y no expuestos a tratamiento con  $\beta$ -bloqueantes) han sido observadas en numerosos estudios (235, 236) y, probablemente, reflejan lo que sucede en la práctica clínica habitual, lo cual limita la capacidad de detectar asociación entre exposición al fármaco y los resultados postoperatorios.

Es un hecho constatado que los  $\beta$ -bloqueantes, administrados durante el periodo perioperatorio, reducen la incidencia de IAM perioperatorio en los pacientes de alto riesgo, no encontrándose dicho beneficio en pacientes de bajo riesgo (216, 236, 237). En nuestro estudio, se estudió una población con un riesgo postoperatorio “moderado-bajo”, como refleja la media de la puntuación APACHE-II en el momento del ingreso en la UCQ ( $\leq 15$ ), valor que es un predictor pronóstico muy fiable (238) (ver Anexo 2).

### **5.1. $\beta$ -bloqueantes y riesgo de desarrollar ACVA**

Por otro lado, diversos estudios clínicos prospectivos muy relevantes (211, 215) han demostrado que introducir el tratamiento  $\beta$ -bloqueante en un intervalo corto de tiempo (horas-1 día), previamente a la intervención, aumenta el riesgo de eventos cardiovasculares al quedar los pacientes expuestos a dosis altas de estos fármacos, dosis que pueden inducir episodios de bradicardia e hipotensión perioperatorias, lo que conlleva asociado un riesgo incrementado de

desarrollar ACVA. Sin embargo, esos mismos efectos adversos no se observan cuando se instaura el tratamiento con  $\beta$ -bloqueantes a largo plazo; esto es, con tiempo suficiente para ajustar la dosis de acuerdo a la tolerancia del paciente. Nuestros datos son congruentes con este último hallazgo, ya que no encontramos aumento del riesgo de desarrollar complicaciones neurológicas, ni tampoco episodios de bradicardia o hipotensión intraoperatorios en el grupo de pacientes expuestos al tratamiento crónico con  $\beta$ -bloqueante frente al grupo no expuesto. Este hecho ha sido reconocido en las recientes guías de la ACC/AHA del 2014 (245), que aconsejan mantener los  $\beta$ -bloqueantes en aquellos pacientes que van a ser intervenidos y que ya consumían estos fármacos de manera habitual (grado de recomendación clase Ib y Ic, respectivamente)

### **5.2. $\beta$ -bloqueantes y riesgo de desarrollar arritmias**

Los datos de nuestro estudio muestran que los pacientes con tratamiento  $\beta$ -bloqueante presentaron episodios de taquicardia supraventricular más frecuentemente que el grupo no tratado ([OR] = 4,2; IC 95% = 1,2-14,7). Este dato no es congruente con estudios previos, en los que el tratamiento con  $\beta$ -bloqueantes demostró reducir el riesgo de fibrilación auricular durante el postoperatorio de cirugía cardíaca (239). De hecho, la terapia  $\beta$ -bloqueante ha demostrado ser eficaz para prevenir la recurrencia de fibrilación auricular en el postoperatorio (231), por lo que el tratamiento  $\beta$ -bloqueante está indicado según se reconoce en la guía de práctica clínica (recomendación IA). Nuestros resultados podrían explicarse por la mayor prevalencia de fibrilación auricular existente en el grupo tratado con  $\beta$ -bloqueantes (más de la mitad de los pacientes) respecto al no tratado (12,1%), lo que convierte al primer grupo en una población más vulnerable a la aparición de episodios de descompensación de la FA previa y de nuevos episodios de taquiarritmias.

### **5.3. $\beta$ -bloqueantes, estancia hospitalaria y mortalidad**

En base a datos de la literatura ya comentados, y a que en nuestra cohorte de pacientes expuestos a  $\beta$ -bloqueantes no se observa mayor incidencia de complicaciones perioperatorias (salvo un incremento en la incidencia de arritmias postoperatorias), es lógico que tampoco se produzcan diferencias significativas en cuanto a la estancia en la UCQ y estancia hospitalaria, ni tampoco en la mortalidad entre los dos grupos estudiados. Estos datos contrastan con la existencia de una mayor morbilidad cardiovascular en el grupo de pacientes expuestos al  $\beta$ -bloqueantes con

respecto a los no expuestos (4,4 *versus* 1,4 comorbilidades cardiovasculares/paciente respectivamente;  $p < 0,001$ ), y con la peor situación funcional, expresada por la mayor puntuación APACHE-II en las primeras 24 horas del ingreso en la UCQ, en el grupo tratado con  $\beta$ -bloqueantes (15,4 *versus* 12,3;  $p < 0,04$ ). El tratamiento  $\beta$ -bloqueante crónico en nuestra serie se administró al grupo de pacientes con mayor riesgo de desarrollar eventos cardioembólicos perioperatorios y, probablemente, por esta buena indicación del fármaco no se observó una mayor incidencia de complicaciones perioperatorias, ni efecto alguno en la estancia hospitalaria ni en la mortalidad en dicho grupo. Este hallazgo podría apuntar hacia un posible efecto protector del tratamiento  $\beta$ -bloqueante, correctamente indicado, en la aparición de complicaciones postoperatorias y mortalidad en pacientes sometidos a cirugía cardíaca no mayor. De hecho, este efecto beneficioso del tratamiento perioperatorio con  $\beta$ -bloqueantes en pacientes de alto riesgo (216, 236, 237) ya ha sido demostrado y, por ello, las guías de práctica clínica habitual recomiendan su uso en estos casos seleccionados (204, 245). Los resultados de nuestro estudio sugieren, por tanto, que el tratamiento  $\beta$ -bloqueante crónico, cuando está correctamente indicado, es seguro y también coste-eficiente durante el perioperatorio, aunque se necesita que otros estudios clínicos prospectivos y controlados con mayor tamaño muestral verifiquen y, en su caso, confirmen este dato.

#### **5.4. Fluidoterapia guiada por objetivos (FGO)**

La FGO (ver Anexo 2) ha demostrado mejorar el pronóstico de los pacientes sometidos a cirugía mayor, reduciendo la morbilidad postoperatoria (240, 241) especialmente si ésta es iniciada de manera precoz en los pacientes de alto riesgo o con mortalidad perioperatoria estimada igual o superior al 20% (242, 243). Como ya describió Shoemaker y colaboradores (244), un objetivo de cifras supranormales de  $\text{DIO}_2$  ( $>600$ ) para mejorar el déficit de oxígeno inducido tras cirugía mayor, se asocia con un aumento en la supervivencia. La FGO ha sido utilizada en todos los pacientes de nuestro estudio (expuestos o no expuestos a  $\beta$ -bloqueantes), observándose igual respuesta a la misma en ambos grupos en términos de tasa de aporte global de oxígeno supraóptimo ( $\text{DIO}_2 > 600$ ) al ingreso, promedio de sobrecargas de volumen requeridas y dosis máxima media de dopexamina empleada. La introducción de esta terapia, también durante el intraoperatorio, probablemente explique, al menos en parte, la baja incidencia de episodios de hipotensión intraoperatoria (7,1% en grupo expuesto a  $\beta$ -bloqueante frente a 9% en grupo no expuesto), que fue inferior a la observada en estudios previos (245)(ver Tabla 23).



Adicionalmente, se ha observado que los niveles séricos de ácido láctico al finalizar la cirugía fueron similares entre ambos grupos de estudio. Es probable que el empleo de la FGO durante el periodo intraoperatorio haya ejercido un efecto protector, al optimizar las condiciones hemodinámicas y la perfusión tisular de manera similar a lo que sucede cuando se ajusta la dosis del  $\beta$ -bloqueante en función de la TA y la FC (216, 245).

En resumen, nuestros resultados indican que los pacientes que reciben un tratamiento crónico con  $\beta$ -bloqueante bien indicado, y que son optimizados hemodinámicamente mediante la FGO durante el periodo perioperatorio, no desarrollan más complicaciones que los pacientes no tratados con  $\beta$ -bloqueantes. Es preciso realizar nuevos ensayos clínicos aleatorizados que permitan identificar si el anterior tratamiento posee un efecto protector frente al desarrollo de complicaciones cardiovasculares en el postoperatorio de cirugía no cardíaca y si es capaz de reducir la estancia hospitalaria y la mortalidad en estos pacientes.

### **5.5. Limitaciones del estudio**

Para finalizar esta discusión, queremos reconocer las limitaciones que presenta nuestro estudio. La primera: el tamaño muestral con 80 pacientes, de los cuales sólo 14 (un 17,5% de la muestra) configuraban el grupo expuesto a  $\beta$ -bloqueantes. La razón fue el limitado periodo de tiempo (3 meses) que duró mi rotación en la UCQ del hospital Saint George's de Londres, lo cual me impidió acceder a una mayor cohorte de pacientes. La segunda: el carácter observacional, retrospectivo y no aleatorizado de nuestro estudio, motivado por las mismas razones anteriores; ello hizo difícil evitar posibles factores de confusión con otras variables no controladas en la interpretación de los resultados. La tercera: nuestro estudio incluye una amplia variedad de cirugías (abdominal, ortopédica, urológica y otorrinológica), lo cual dificulta la comparación de los resultados. Finalmente, queremos señalar otras limitaciones, como el hecho de que el grupo de pacientes expuesto a  $\beta$ -bloqueantes presentaba una morbilidad cardiovascular significativamente mayor que el grupo no expuesto; el posible efecto aditivo de otros antihipertensivos empleados en estos pacientes (IECA, diuréticos,  $\alpha$ -bloqueantes), los cuales también han demostrado estar implicados en los mecanismos de remodelado cardiovascular, lo que podría interferir en los resultados. Por último, en nuestro estudio no se recogen pacientes de alto riesgo cardiovascular, hecho muy relevante ya que, precisamente estos pacientes son los que más se benefician del tratamiento  $\beta$ -bloqueante durante el perioperatorio (216, 236, 237).

## ***6. CONCLUSIONES (Parte-II)***

### ***CONCLUSIONS (Part-II)***

A continuación enumeramos las principales conclusiones derivadas de nuestro estudio clínico observacional realizado en pacientes sometidos a cirugía no cardíaca, tratados o no crónicamente con fármacos  $\beta$ -bloqueantes:

- 1) El tratamiento  $\beta$ -bloqueante crónico no aumentó el riesgo de desarrollar IAM, a pesar de la existencia de mayor morbilidad cardiovascular en el grupo de pacientes tratados con  $\beta$ -bloqueantes con respecto al grupo de controles.
- 2) Los  $\beta$ -bloqueantes no influyeron en la aparición de episodios de hipotensión intraoperatoria ni tampoco en la presentación de ACVA durante el perioperatorio.
- 3) Los pacientes tratados crónicamente con  $\beta$ -bloqueantes tuvieron la misma prevalencia de complicaciones postoperatorias que los pacientes no tratados del grupo control, a excepción de una mayor incidencia de fibrilación auricular postoperatoria.
- 4) No se encontraron diferencias respecto a la duración de la estancia en la UCQ o en el hospital, ni tampoco respecto a la mortalidad hospitalaria entre los dos grupos de pacientes.
- 5) Nuestros hallazgos son preliminares, por lo que deben ser completados con estudios adicionales prospectivos y aleatorizados, con un adecuado tamaño muestral, para dilucidar la eficacia real del tratamiento crónico con  $\beta$ -bloqueantes en la profilaxis de complicaciones perioperatorias tras cirugía no cardíaca.

The following are the main conclusions derived from our clinical observational study in noncardiac surgery patients receiving or not receiving chronic  $\beta$ -blocker treatment:

1. Chronic  $\beta$ -blocker therapy did not increase the risk of developing acute myocardial infarction (AMI), despite the existence of increased cardiovascular morbidity in the group of esmolol-treated patients compared to the control group.
2. The  $\beta$ -blockers did not influence the occurrence of intraoperative hypotension episodes or of stroke during the perioperative period.
3. Patients receiving chronic  $\beta$ -blocker treatment had the same prevalence of postoperative complications as untreated control patients, with the exception of a higher incidence of postoperative atrial fibrillation in the former group.
4. No differences were found regarding the length of ICU or hospital stay or in hospital mortality between the two groups of patients.
5. These findings are preliminary, so additional prospective and randomized studies, with an adequate sample size, are required to elucidate the actual effectiveness of chronic treatment with  $\beta$ -blockers for the prophylaxis of perioperative complications after noncardiac surgery.

## ***CONCLUSIONES GLOBALES/ OVERALL CONCLUSIONS***

Esta tesis combina un estudio experimental y otro clínico observacional que tienen, como nexo común, a los fármacos  $\beta$ -bloqueantes. En el estudio experimental, hemos analizado el efecto del tratamiento breve con esmolol, un bloqueante del adrenoreceptor  $\beta_1$ , en el remodelado de la arteria coronaria de un modelo experimental de hipertensión arterial primaria, como es el de la rata SHR. En el estudio clínico, hemos evaluado cómo influye el tratamiento crónico con  $\beta$ -bloqueantes en la morbilidad y mortalidad de pacientes intervenidos de cirugía no cardíaca. Las conclusiones generales derivadas de ambos estudios son las siguientes:

- 1) El esmolol, a diferencia de otros antihipertensivos, produce una regresión del remodelado arterial coronario en ratas SHR de forma muy rápida (48 h); esta regresión se produce como resultado de cambios estructurales y funcionales en la arteria, así como por la reducción del estrés oxidativo e incremento de la biodisponibilidad de NO inducidos por el  $\beta$ -bloqueante.
- 2) Nuestros hallazgos con esmolol sugieren que este fármaco, u otros con efectos similares, podría tener aplicación clínica si se instituyera como una terapia aguda en pacientes hipertensos con enfermedad cardíaca compensada. Este abordaje terapéutico, seguido de un control adecuado de la hipertensión con otros fármacos antihipertensivos, podría prevenir la progresión de la enfermedad hacia la cardiopatía isquémica y la disfunción miocárdica.

- 
- 1) La terapia crónica con  $\beta$ -bloqueantes no aumenta el riesgo de desarrollar IAM tras cirugía mayor no cardíaca, a pesar de la existencia de mayor morbilidad cardiovascular en el grupo expuesto a los anteriores fármacos.
  - 2) Los  $\beta$ -bloqueantes, administrados crónicamente, tampoco incrementan los episodios de hipotensión intraoperatoria, la incidencia de ACVA perioperatorio ni otras complicaciones postoperatorias, a excepción de la mayor incidencia de FA perioperatoria.
  - 3) El uso crónico de  $\beta$ -bloqueantes no influyó en la mortalidad ni en la duración de la estancia hospitalaria.
  - 4) Se necesitan estudios prospectivos adicionales, y de mayor tamaño muestral, para confirmar si la terapia a largo plazo con  $\beta$ -bloqueantes influye favorablemente en la evolución postoperatoria de los pacientes quirúrgicos y, en caso afirmativo, determinar si los mecanismos de remodelado cardiovascular están o no implicados.

This thesis combines an experimental study and a clinical observational study, which have, as a common link,  $\beta$ -blocker drugs. The experimental study analyzed the effect of a brief treatment with esmolol, a  $\beta_1$ -blocker, in remodeling of coronary artery in an experimental model of primary hypertension: the SHR rat. The clinical study evaluated how chronic therapy with  $\beta$ -blockers influenced morbidity and mortality in patients undergoing noncardiac surgery. The general conclusions derived from both studies are as follows:

- 1) Esmolol, unlike other antihypertensive drugs, produces regression of coronary artery remodeling very quickly in SHR (48 h); this regression occurs as a result of structural and functional changes in the artery, combined with  $\beta$ -blocker-induced reduction in oxidative stress and increase in NO bioavailability.
- 2) Our findings with esmolol suggest that this drug, or other derivatives with similar effects, could have clinical application if instituted as acute therapy for hypertensive patients with compensated heart disease. This therapeutic approach, followed by adequate control of hypertension with other antihypertensive drugs, could prevent disease progression to ischemic heart disease and myocardial dysfunction.

- 
- 1) Chronic therapy with  $\beta$ -blocker drugs does not increase the risk of acute myocardial infarction after major noncardiac surgery, despite the existence of increased cardiovascular morbidity in the group receiving these drugs.
  - 2) The  $\beta$ -blocker drugs, administered chronically, did not increase intraoperative episodes of hypotension, the incidence of stroke or that of other postoperative complications, although these patients did show a slightly increased risk of perioperative atrial fibrillation episodes.
  - 3) Chronic therapy with  $\beta$ -blockers did not influence the mortality or hospital stay.
  - 4) Additional prospective studies with a larger sample size are needed to confirm whether long-term therapy with  $\beta$ -blockers improves the postoperative evolution of surgical patients and, if so, determine whether the mechanisms of cardiovascular remodeling are or are not involved.

## ***BIBLIOGRAFÍA***



1. Giles TD, Materson BJ, Cohn JN, Kostis JB. Definition and classification of hypertension: an update. *Journal of Clinical Hypertension*. 2009;11(11):611-4.
2. Ortiz Marron H, Vaamonde Martin RJ, Zorrilla Torras B, Arrieta Blanco F, Casado Lopez M, Medrano Albero MJ. [Prevalence, degree of control and treatment of hypertension in the adult population of Madrid, Spain]. *Revista española de salud pública*. 2011;85(4):329-38. Prevalencia, grado de control y tratamiento de la hipertensión arterial en la población de 30 a 74 años de la Comunidad de Madrid: Estudio PREDIMERC.
3. Lund-Johansen P. Haemodynamics in essential hypertension. *Clin Sci (Lond)*. 1980;59 Suppl 6:343s-54s.
4. Mancia G, Grassi G, Giannattasio C, Seravalle G. Sympathetic activation in the pathogenesis of hypertension and progression of organ damage. *Hypertension*. 1999;34(4 Pt 2):724-8.
5. Mulvany MJ. Small artery remodelling in hypertension: causes, consequences and therapeutic implications. *Med Biol Eng Comput*. 2008;46(5):461-7.
6. Barengo NC, Antikainen R, Katarinen M, Laatikainen T, Tuomilehto J. The effects of control of systolic and diastolic hypertension on cardiovascular and all-cause mortality in a community-based population cohort. *Journal of Human Hypertension*. 2013;27(11):693-7.
7. Drazner MH. The progression of hypertensive heart disease. *Circulation*. 2011;123(3):327-34.
8. Levy D, Garrison RJ, Savage DD, Kannel WB, Castelli WP. Prognostic implications of echocardiographically determined left ventricular mass in the Framingham Heart Study. *The New England Journal of Medicine*. 1990;322(22):1561-6.
9. Vakili BA, Okin PM, Devereux RB. Prognostic implications of left ventricular hypertrophy. *American Heart Journal*. 2001;141(3):334-41.
10. Larsen GC, Griffith JL, Beshansky JR, D'Agostino RB, Selker HP. Electrocardiographic left ventricular hypertrophy in patients with suspected acute cardiac ischemia--its influence on diagnosis, triage, and short-term prognosis: a multicenter study. *J Gen Intern Med*. 1994;9(12):666-73.
11. Barrios V RL. Hypertension with left ventricular hypertrophy/ diastolic dysfunction. In: Sleight P, Bakris G, Mancia G, Messerli F, Opie L editors. *Clinical cases in Hypertension Specific treatment strategies* Richmond upon Thames United Kingdom. 2000:16-22.
12. Bendersky M PD, Boccardo D. Cardiopatía hipertensiva. *Rev Fed Cardiol*. 2002;31:321-34.
13. Verdecchia P, Carini G, Circo A, Dovellini E, Giovannini E, Lombardo M, et al. Left ventricular mass and cardiovascular morbidity in essential hypertension: the MAVI study. *Journal of the American College of Cardiology*. 2001;38(7):1829-35.
14. Colucci WS, Koliass TJ, Adams KF, Armstrong WF, Ghali JK, Gottlieb SS, et al. Metoprolol reverses left ventricular remodeling in patients with asymptomatic systolic dysfunction: the REversal of VEntricular Remodeling with Toprol-XL (REVERT) trial. *Circulation*. 2007;116(1):49-56.
15. Quintana-Villamandos B, Delgado-Martos MJ, Sanchez-Hernandez JJ, Gomez de Diego JJ, Fernandez-Criado Mdel C, Canillas F, et al. Early regression of left ventricular hypertrophy after treatment with esmolol in an experimental rat model of primary hypertension. *Hypertens Res*. 2013;36(5):408-13.
16. Baumbach GL, Heistad DD. Remodeling of cerebral arterioles in chronic hypertension. *Hypertension*. 1989;13(6 Pt 2):968-72.
17. Gibbons GH, Dzau VJ. The emerging concept of vascular remodeling. *The New England Journal of Medicine*. 1994;330(20):1431-8.
18. Heagerty AM, Aalkjaer C, Bund SJ, Korsgaard N, Mulvany MJ. Small artery structure in hypertension. Dual processes of remodeling and growth. *Hypertension*. 1993;21(4):391-7.
19. Bund SJ, Lee RM. Arterial structural changes in hypertension: a consideration of methodology, terminology and functional consequence. *J Vasc Res*. 2003;40(6):547-57.
20. Intengan HD, Schiffrin EL. Vascular remodeling in hypertension: roles of apoptosis, inflammation, and fibrosis. *Hypertension*. 2001;38(3 Pt 2):581-7.
21. Schiffrin EL, Deng LY, Larochelle P. Morphology of resistance arteries and comparison of effects of vasoconstrictors in mild essential hypertensive patients. *Clin Invest Med*. 1993;16(3):177-86.

22. Mulvany MJ, Baumbach GL, Aalkjaer C, Heagerty AM, Korsgaard N, Schiffrin EL, et al. Vascular remodeling. *Hypertension*. 1996;28(3):505-6.
23. Bakker EN, van der Meulen ET, van den Berg BM, Everts V, Spaan JA, VanBavel E. Inward remodeling follows chronic vasoconstriction in isolated resistance arteries. *J Vasc Res*. 2002;39(1):12-20.
24. Rizzoni D, Porteri E, Castellano M, Bettoni G, Muiesan ML, Muiesan P, et al. Vascular hypertrophy and remodeling in secondary hypertension. *Hypertension*. 1996;28(5):785-90.
25. Rizzoni D, Porteri E, Guelfi D, Muiesan ML, Valentini U, Cimino A, et al. Structural alterations in subcutaneous small arteries of normotensive and hypertensive patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Circulation*. 2001;103(9):1238-44.
26. Endemann DH, Pu Q, De Ciuceis C, Savoia C, Virdis A, Neves MF, et al. Persistent remodeling of resistance arteries in type 2 diabetic patients on antihypertensive treatment. *Hypertension*. 2004;43(2):399-404.
27. Pasterkamp G, Galis ZS, de Kleijn DP. Expansive arterial remodeling: location, location, location. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. 2004;24(4):650-7.
28. Liu JJ, Peng L, Bradley CJ, Zulli A, Shen J, Buxton BF. Increased apoptosis in the heart of genetic hypertension, associated with increased fibroblasts. *Cardiovasc Res*. 2000;45(3):729-35.
29. Rodriguez-Lopez AM, Flores O, Arevalo MA, Lopez-Novoa JM. Glomerular cell proliferation and apoptosis in uninephrectomized spontaneously hypertensive rats. *Kidney Int Suppl*. 1998;68:S36-40.
30. Hamet P, Richard L, Dam TV, Teiger E, Orlov SN, Gaboury L, et al. Apoptosis in target organs of hypertension. *Hypertension*. 1995;26(4):642-8.
31. Dickhout JG, Lee RM. Apoptosis in the muscular arteries from young spontaneously hypertensive rats. *Journal of Hypertension*. 1999;17(10):1413-9.
32. Rizzoni D, Rodella L, Porteri E, Rezzani R, Guelfi D, Piccoli A, et al. Time course of apoptosis in small resistance arteries of spontaneously hypertensive rats. *Journal of Hypertension*. 2000;18(7):885-91.
33. Bakker EN, Buus CL, Spaan JA, Perree J, Ganga A, Rolf TM, et al. Small artery remodeling depends on tissue-type transglutaminase. *Circ Res*. 2005;96(1):119-26.
34. Deanfield JE, Halcox JP, Rabelink TJ. Endothelial function and dysfunction: testing and clinical relevance. *Circulation*. 2007;115(10):1285-95.
35. Endemann DH, Schiffrin EL. Endothelial dysfunction. *J Am Soc Nephrol*. 2004;15(8):1983-92.
36. Deng LY, Li JS, Schiffrin EL. Endothelium-dependent relaxation of small arteries from essential hypertensive patients: mechanisms and comparison with normotensive subjects and with responses of vessels from spontaneously hypertensive rats. *Clin Sci (Lond)*. 1995;88(6):611-22.
37. Sack M. Tumor necrosis factor-alpha in cardiovascular biology and the potential role for anti-tumor necrosis factor-alpha therapy in heart disease. *Pharmacol Ther*. 2002;94(1-2):123-35.
38. van der Meer IM, de Maat MP, Kiliaan AJ, van der Kuip DA, Hofman A, Witteman JC. The value of C-reactive protein in cardiovascular risk prediction: the Rotterdam Study. *Arch Intern Med*. 2003;163(11):1323-8.
39. Pagano PJ, Clark JK, Cifuentes-Pagano ME, Clark SM, Callis GM, Quinn MT. Localization of a constitutively active, phagocyte-like NADPH oxidase in rabbit aortic adventitia: enhancement by angiotensin II. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1997;94(26):14483-8.
40. Jones DP, Radi R. Redox pioneer: professor Helmut Sies. *Antioxid Redox Signal*. 2014;21(18):2459-68.
41. Ahmad A, Singhal U, Hossain MM, Islam N, Rizvi I. The role of the endogenous antioxidant enzymes and malondialdehyde in essential hypertension. *J Clin Diagn Res*. 2013;7(6):987-90.
42. Rodrigo R, Libuy M, Feliu F, Hasson D. Oxidative stress-related biomarkers in essential hypertension and ischemia-reperfusion myocardial damage. *Dis Markers*. 2013;35(6):773-90.
43. Ghasemzadeh N, Patel RS, Eapen DJ, Veledar E, Al Kassem H, Manocha P, et al. Oxidative stress is associated with increased pulmonary artery systolic pressure in humans. *Hypertension*. 2014;63(6):1270-5.
44. Carrizzo A, Puca A, Damato A, Marino M, Franco E, Pompeo F, et al. Resveratrol improves vascular function in patients with hypertension and dyslipidemia by modulating NO metabolism. *Hypertension*. 2013;62(2):359-66.

45. Pechanova O, Simko F. The role of nitric oxide in the maintenance of vasoactive balance. *Physiological Research /Academia Scientiarum Bohemoslovaca*. 2007;56 Suppl 2:S7-S16.
46. Nava E, Palmer RM, Moncada S. Inhibition of nitric oxide synthesis in septic shock: how much is beneficial? *Lancet*. 1991;338(8782-8783):1555-7.
47. Anderson TJ, Uehata A, Gerhard MD, Meredith IT, Knab S, Delagrang D, et al. Close relation of endothelial function in the human coronary and peripheral circulations. *Journal of the American College of Cardiology*. 1995;26(5):1235-41.
48. Montezano AC, Dulak-Lis M, Tsiropoulou S, Harvey A, Briones AM, Touyz RM. Oxidative stress and human hypertension: vascular mechanisms, biomarkers, and novel therapies. *Can J Cardiol*. 2015;31(5):631-41.
49. Evans P, Halliwell B. Free radicals and hearing. Cause, consequence, and criteria. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 1999;884:19-40.
50. Griendling KK, Sorescu D, Lassegue B, Ushio-Fukai M. Modulation of protein kinase activity and gene expression by reactive oxygen species and their role in vascular physiology and pathophysiology. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. 2000;20(10):2175-83.
51. Vecchione C, Fratta L, Rizzoni D, Notte A, Poulet R, Porteri E, et al. Cardiovascular influences of alpha1b-adrenergic receptor defect in mice. *Circulation*. 2002;105(14):1700-7.
52. Lariviere R, Day R, Schiffrin EL. Increased expression of endothelin-1 gene in blood vessels of deoxycorticosterone acetate-salt hypertensive rats. *Hypertension*. 1993;21(6 Pt 2):916-20.
53. Schiffrin EL, Deng LY, Sventek P, Day R. Enhanced expression of endothelin-1 gene in resistance arteries in severe human essential hypertension. *Journal of Hypertension*. 1997;15(1):57-63.
54. Li JS, Lariviere R, Schiffrin EL. Effect of a nonselective endothelin antagonist on vascular remodeling in deoxycorticosterone acetate-salt hypertensive rats. Evidence for a role of endothelin in vascular hypertrophy. *Hypertension*. 1994;24(2):183-8.
55. Pu Q, Neves MF, Virdis A, Touyz RM, Schiffrin EL. Endothelin antagonism on aldosterone-induced oxidative stress and vascular remodeling. *Hypertension*. 2003;42(1):49-55.
56. Stow LR, Gumz ML, Lynch IJ, Greenlee MM, Rudin A, Cain BD, et al. Aldosterone modulates steroid receptor binding to the endothelin-1 gene (edn1). *J Biol Chem*. 2009;284(44):30087-96.
57. Bezie Y, Lamaziere JM, Laurent S, Challande P, Cunha RS, Bonnet J, et al. Fibronectin expression and aortic wall elastic modulus in spontaneously hypertensive rats. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. 1998;18(7):1027-34.
58. Intengan HD, Thibault G, Li JS, Schiffrin EL. Resistance artery mechanics, structure, and extracellular components in spontaneously hypertensive rats : effects of angiotensin receptor antagonism and converting enzyme inhibition. *Circulation*. 1999;100(22):2267-75.
59. Sharifi AM, Li JS, Endemann D, Schiffrin EL. Effects of enalapril and amlodipine on small-artery structure and composition, and on endothelial dysfunction in spontaneously hypertensive rats. *Journal of Hypertension*. 1998;16(4):457-66.
60. Thybo NK, Mulvany MJ, Jastrup B, Nielsen H, Aalkjaer C. Some pharmacological and elastic characteristics of isolated subcutaneous small arteries from patients with essential hypertension. *Journal of Hypertension*. 1996;14(8):993-8.
61. Schiffrin EL. Effects of aldosterone on the vasculature. *Hypertension*. 2006;47(3):312-8.
62. Bray P, Agrotis A, Bobik A. Transforming growth factor-beta and receptor tyrosine kinase-activating growth factors negatively regulate collagen genes in smooth muscle of hypertensive rats. *Hypertension*. 1998;31(4):986-94.
63. Min LJ, Mogi M, Li JM, Iwanami J, Iwai M, Horiuchi M. Aldosterone and angiotensin II synergistically induce mitogenic response in vascular smooth muscle cells. *Circ Res*. 2005;97(5):434-42.
64. Brown NJ. Aldosterone and vascular inflammation. *Hypertension*. 2008;51(2):161-7.
65. Nyby MD, Abedi K, Smutko V, Eslami P, Tuck ML. Vascular Angiotensin type 1 receptor expression is associated with vascular dysfunction, oxidative stress and inflammation in fructose-fed rats. *Hypertens Res*. 2007;30(5):451-7.

66. Park JB, Schiffrin EL. Small artery remodeling is the most prevalent (earliest?) form of target organ damage in mild essential hypertension. *Journal of Hypertension*. 2001;19(5):921-30.
67. Rizzoni D, Porteri E, Boari GE, De Ciuceis C, Sleiman I, Muiesan ML, et al. Prognostic significance of small-artery structure in hypertension. *Circulation*. 2003;108(18):2230-5.
68. De Ciuceis C, Porteri E, Rizzoni D, Rizzardi N, Paiardi S, Boari GE, et al. Structural alterations of subcutaneous small-resistance arteries may predict major cardiovascular events in patients with hypertension. *American Journal of Hypertension*. 2007;20(8):846-52.
69. González JR AE. Betabloqueantes: fundamentos y aplicación práctica. *Acción Médica*, 1ªed Madrid. 2003.
70. Ahlquist RP. A study of the adrenotropic receptors. *Am J Physiol*. 1948;153(3):586-600.
71. Cruz- Pardos P F-RC, Garutti I. . Betabloqueantes: utilidad en cirugía no cardíaca. *Anesthesiol Reanim* 2005;52:617-26.
72. Gauthier C, Langin D, Balligand JL. Beta3-adrenoceptors in the cardiovascular system. *Trends Pharmacol Sci*. 2000;21(11):426-31.
73. Lopez-Sendon J, Swedberg K, McMurray J, Tamargo J, Maggioni AP, Dargie H, et al. [Expert Consensus document on beta-adrenergic receptor blockers]. *Rev Esp Cardiol*. 2005;58(1):65-90. Documento de Consenso de Expertos sobre bloqueadores de los receptores beta-adrenergicos.
74. Gorre F, Vandekerckhove H. Beta-blockers: focus on mechanism of action. Which beta-blocker, when and why? *Acta Cardiol*. 2010;65(5):565-70.
75. Garnock-Jones KP. Esmolol: a review of its use in the short-term treatment of tachyarrhythmias and the short-term control of tachycardia and hypertension. *Drugs*. 2012;72(1):109-32.
76. Fita G, Gomar C, Rovira I. [Esmolol in Anesthesiology: Pharmacology and Indications]. *Rev Esp Anesthesiol Reanim*. 1999;46(9):404-14.
77. Greenspan AM, Spielman SR, Horowitz LN, Senior S, Steck J, Laddu A. Electrophysiology of esmolol. *The American Journal of Cardiology*. 1985;56(11):19F-26F.
78. Deegan R, Wood AJ. Beta-receptor antagonism does not fully explain esmolol-induced hypotension. *Clin Pharmacol Ther*. 1994;56(2):223-8.
79. Jordan D, Shulman SM, Miller ED, Jr. Esmolol hydrochloride, sodium nitroprusside, and isoflurane differ in their ability to alter peripheral sympathetic responses. *Anesthesia and Analgesia*. 1993;77(2):281-90.
80. Yu SK, Tait G, Karkouti K, Wijeyesundera D, McCluskey S, Beattie WS. The safety of perioperative esmolol: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Anesthesia and Analgesia*. 2011;112(2):267-81.
81. Zangrillo A, Turi S, Crescenzi G, Oriani A, Distaso F, Monaco F, et al. Esmolol reduces perioperative ischemia in cardiac surgery: a meta-analysis of randomized controlled studies. *J Cardiothorac Vasc Anesth*. 2009;23(5):625-32.
82. Landoni G, Turi S, Biondi-Zoccai G, Bignami E, Testa V, Belloni I, et al. Esmolol reduces perioperative ischemia in noncardiac surgery: a meta-analysis of randomized controlled studies. *J Cardiothorac Vasc Anesth*. 2010;24(2):219-29.
83. Jacquet-Lagrece M, Allaouchiche B, Restagno D, Paquet C, Ayoub JY, Etienne J, et al. Gut and sublingual microvascular effect of esmolol during septic shock in a porcine model. *Crit Care*. 2015;19:241.
84. Morelli A, Ertmer C, Westphal M, Rehberg S, Kampmeier T, Ligges S, et al. Effect of heart rate control with esmolol on hemodynamic and clinical outcomes in patients with septic shock: a randomized clinical trial. *JAMA*. 2013;310(16):1683-91.
85. Lee SJ, Lee JN. The effect of perioperative esmolol infusion on the postoperative nausea, vomiting and pain after laparoscopic appendectomy. *Korean J Anesthesiol*. 2010;59(3):179-84.
86. Chia YY, Chan MH, Ko NH, Liu K. Role of beta-blockade in anaesthesia and postoperative pain management after hysterectomy. *British Journal of Anaesthesia*. 2004;93(6):799-805.
87. Collard V, Mistràletti G, Taqi A, Asenjo JF, Feldman LS, Fried GM, et al. Intraoperative esmolol infusion in the absence of opioids spares postoperative fentanyl in patients undergoing ambulatory laparoscopic cholecystectomy. *Anesthesia and Analgesia*. 2007;105(5):1255-62.

88. Eftekhari A, Rahman A, Schaebel LH, Chen H, Rasmussen CV, Aalkjaer C, et al. Chronic cystamine treatment inhibits small artery remodelling in rats. *J Vasc Res.* 2007;44(6):471-82.
89. Touyz RM, Briones AM. Reactive oxygen species and vascular biology: implications in human hypertension. *Hypertens Res.* 2011;34(1):5-14.
90. Buus NH, Bottcher M, Jorgensen CG, Christensen KL, Thygesen K, Nielsen TT, et al. Myocardial perfusion during long-term angiotensin-converting enzyme inhibition or beta-blockade in patients with essential hypertension. *Hypertension.* 2004;44(4):465-70.
91. Schiffrin EL. Circulatory therapeutics: use of antihypertensive agents and their effects on the vasculature. *J Cell Mol Med.* 2010;14(5):1018-29.
92. Stead S, Werstiuk ES, Lee RM. Nifedipine induces apoptosis in cultured vascular smooth muscle cells from spontaneously hypertensive rats. *Life Sci.* 2000;67(8):895-906.
93. Sharifi AM, Schiffrin EL. Apoptosis in vasculature of spontaneously hypertensive rats: effect of an angiotensin converting enzyme inhibitor and a calcium channel antagonist. *American Journal of Hypertension.* 1998;11(9):1108-16.
94. deBlois D, Tea BS, Than VD, Tremblay J, Hamet P. Smooth muscle apoptosis during vascular regression in spontaneously hypertensive rats. *Hypertension.* 1997;29(1 Pt 2):340-9.
95. Hamet P, deBlois D, Dam TV, Richard L, Teiger E, Tea BS, et al. Apoptosis and vascular wall remodeling in hypertension. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology.* 1996;74(7):850-61.
96. Tea BS, Der Sarkissian S, Touyz RM, Hamet P, deBlois D. Proapoptotic and growth-inhibitory role of angiotensin II type 2 receptor in vascular smooth muscle cells of spontaneously hypertensive rats in vivo. *Hypertension.* 2000;35(5):1069-73.
97. Diez J, Panizo A, Hernandez M, Pardo J. Is the regulation of apoptosis altered in smooth muscle cells of adult spontaneously hypertensive rats? *Hypertension.* 1997;29(3):776-80.
98. Van Bortel LM, Kool MJ, Boudier HA, Struijker Boudier HA. Effects of antihypertensive agents on local arterial distensibility and compliance. *Hypertension.* 1995;26(3):531-4.
99. Benetos A, Gautier S, Lafleche A, Topouchian J, Frangin G, Girerd X, et al. Blockade of angiotensin II type 1 receptors: effect on carotid and radial artery structure and function in hypertensive humans. *J Vasc Res.* 2000;37(1):8-15; discussion 68-70.
100. Davies J, Gavin A, Band M, Morris A, Struthers A. Spironolactone reduces brachial pulse wave velocity and PIIINP levels in hypertensive diabetic patients. *Br J Clin Pharmacol.* 2005;59(5):520-3.
101. Epstein M, Safar ME. Aldosterone and large artery vessels. *Hypertension.* 2006;47(6):e24.
102. Savoia C, Touyz RM, Amiri F, Schiffrin EL. Selective mineralocorticoid receptor blocker eplerenone reduces resistance artery stiffness in hypertensive patients. *Hypertension.* 2008;51(2):432-9.
103. Williams B, Lacy PS, Thom SM, Cruickshank K, Stanton A, Collier D, et al. Differential impact of blood pressure-lowering drugs on central aortic pressure and clinical outcomes: principal results of the Conduit Artery Function Evaluation (CAFE) study. *Circulation.* 2006;113(9):1213-25.
104. Lund-Johansen P, Omvik P. Acute and chronic hemodynamic effects of drugs with different actions on adrenergic receptors: a comparison between alpha blockers and different types of beta blockers with and without vasodilating effect. *Cardiovasc Drugs Ther.* 1991;5(3):605-15.
105. Lindholm LH, Ibsen H, Dahlof B, Devereux RB, Beevers G, de Faire U, et al. Cardiovascular morbidity and mortality in patients with diabetes in the Losartan Intervention For Endpoint reduction in hypertension study (LIFE): a randomised trial against atenolol. *Lancet.* 2002;359(9311):1004-10.
106. Motz W, Strauer BE. Improvement of coronary flow reserve after long-term therapy with enalapril. *Hypertension.* 1996;27(5):1031-8.
107. Schwartzkopff B, Brehm M, Mundhenke M, Strauer BE. Repair of coronary arterioles after treatment with perindopril in hypertensive heart disease. *Hypertension.* 2000;36(2):220-5.
108. Rizzoni D, Palombo C, Porteri E, Muiesan ML, Kozakova M, La Canna G, et al. Relationships between coronary flow vasodilator capacity and small artery remodelling in hypertensive patients. *Journal of Hypertension.* 2003;21(3):625-31.

109. Schiffrin EL, Deng LY, Laroche P. Effects of a beta-blocker or a converting enzyme inhibitor on resistance arteries in essential hypertension. *Hypertension*. 1994;23(1):83-91.
110. Schiffrin EL, Deng LY, Laroche P. Progressive improvement in the structure of resistance arteries of hypertensive patients after 2 years of treatment with an angiotensin I-converting enzyme inhibitor. Comparison with effects of a beta-blocker. *American Journal of Hypertension*. 1995;8(3):229-36.
111. Thybo NK, Stephens N, Cooper A, Aalkjaer C, Heagerty AM, Mulvany MJ. Effect of antihypertensive treatment on small arteries of patients with previously untreated essential hypertension. *Hypertension*. 1995;25(4 Pt 1):474-81.
112. Schiffrin EL, Park JB, Intengan HD, Touyz RM. Correction of arterial structure and endothelial dysfunction in human essential hypertension by the angiotensin receptor antagonist losartan. *Circulation*. 2000;101(14):1653-9.
113. Schiffrin EL, Park JB, Pu Q. Effect of crossing over hypertensive patients from a beta-blocker to an angiotensin receptor antagonist on resistance artery structure and on endothelial function. *Journal of Hypertension*. 2002;20(1):71-8.
114. Schiffrin EL, Deng LY. Structure and function of resistance arteries of hypertensive patients treated with a beta-blocker or a calcium channel antagonist. *Journal of Hypertension*. 1996;14(10):1247-55.
115. Schiffrin EL, Pu Q, Park JB. Effect of amlodipine compared to atenolol on small arteries of previously untreated essential hypertensive patients. *American Journal of Hypertension*. 2002;15(2 Pt 1):105-10.
116. Rizzoni D, Porteri E, De Ciuceis C, Sleiman I, Rodella L, Rezzani R, et al. Effect of treatment with candesartan or enalapril on subcutaneous small artery structure in hypertensive patients with noninsulin-dependent diabetes mellitus. *Hypertension*. 2005;45(4):659-65.
117. Savoia C, Touyz RM, Endemann DH, Pu Q, Ko EA, De Ciuceis C, et al. Angiotensin receptor blocker added to previous antihypertensive agents on arteries of diabetic hypertensive patients. *Hypertension*. 2006;48(2):271-7.
118. Rehman A, Leibowitz A, Yamamoto N, Rautureau Y, Paradis P, Schiffrin EL. Angiotensin type 2 receptor agonist compound 21 reduces vascular injury and myocardial fibrosis in stroke-prone spontaneously hypertensive rats. *Hypertension*. 2012;59(2):291-9.
119. Brassard P, Amiri F, Thibault G, Schiffrin EL. Role of angiotensin type-1 and angiotensin type-2 receptors in the expression of vascular integrins in angiotensin II-infused rats. *Hypertension*. 2006;47(1):122-7.
120. Creager MA, Roddy MA. Effect of captopril and enalapril on endothelial function in hypertensive patients. *Hypertension*. 1994;24(4):499-505.
121. Kiowski W, Linder L, Nuesch R, Martina B. Effects of cilazapril on vascular structure and function in essential hypertension. *Hypertension*. 1996;27(3 Pt 1):371-6.
122. Schiffrin EL, Deng LY. Comparison of effects of angiotensin I-converting enzyme inhibition and beta-blockade for 2 years on function of small arteries from hypertensive patients. *Hypertension*. 1995;25(4 Pt 2):699-703.
123. Malik RA, Schofield IJ, Izzard A, Austin C, Bermann G, Heagerty AM. Effects of angiotensin type-1 receptor antagonism on small artery function in patients with type 2 diabetes mellitus. *Hypertension*. 2005;45(2):264-9.
124. Schiffrin EL. Remodeling of resistance arteries in essential hypertension and effects of antihypertensive treatment. *American Journal of Hypertension*. 2004;17(12 Pt 1):1192-200.
125. Ghiadoni L, Virdis A, Magagna A, Taddei S, Salvetti A. Effect of the angiotensin II type 1 receptor blocker candesartan on endothelial function in patients with essential hypertension. *Hypertension*. 2000;35(1 Pt 2):501-6.
126. Perros F, Ranchoux B, Izikki M, Bentebbal S, Happe C, Antigny F, et al. Nebivolol for improving endothelial dysfunction, pulmonary vascular remodeling, and right heart function in pulmonary hypertension. *Journal of the American College of Cardiology*. 2015;65(7):668-80.
127. Schiffrin EL. Antioxidants in hypertension and cardiovascular disease. *Mol Interv*. 2010;10(6):354-62.
128. Ardalan MR, Rafieian-Kopaei M. Antioxidant supplementation in hypertension. *J Renal Inj Prev*. 2014;3(2):39-40.
129. Zhou N, Wang T, Song J, He H, He J, He L. Antihypertensive and vascular remodeling effects of the imperatorin derivative OW1 in renovascular hypertension rats. *Clin Exp Pharmacol Physiol*. 2014;41(8):571-8.

130. Bohlen HG. Localization of vascular resistance changes during hypertension. *Hypertension*. 1986;8(3):181-3.
131. Prasad A, Dunnill GS, Mortimer PS, MacGregor GA. Capillary rarefaction in the forearm skin in essential hypertension. *Journal of Hypertension*. 1995;13(2):265-8.
132. Unger T, Mattfeldt T, Lamberty V, Bock P, Mall G, Linz W, et al. Effect of early onset angiotensin converting enzyme inhibition on myocardial capillaries. *Hypertension*. 1992;20(4):478-82.
133. Greene AS. Life and death in the microcirculation: a role for angiotensin II. *Microcirculation*. 1998;5(2-3):101-7.
134. Levy BI. Can angiotensin II type 2 receptors have deleterious effects in cardiovascular disease? Implications for therapeutic blockade of the renin-angiotensin system. *Circulation*. 2004;109(1):8-13.
135. Okamoto K, Aoki K. Development of a strain of spontaneously hypertensive rats. *Jpn Circ J*. 1963;27:282-93.
136. Kurtz TW, Morris RC, Jr. Biological variability in Wistar-Kyoto rats. Implications for research with the spontaneously hypertensive rat. *Hypertension*. 1987;10(1):127-31.
137. St Lezin E, Simonet L, Pravenec M, Kurtz TW. Hypertensive strains and normotensive 'control' strains. How closely are they related? *Hypertension*. 1992;19(5):419-24.
138. Johnson ML, Ely DL, Turner ME. Genetic divergence between the Wistar-Kyoto rat and the spontaneously hypertensive rat. *Hypertension*. 1992;19(5):425-7.
139. Doggrell SA, Brown L. Rat models of hypertension, cardiac hypertrophy and failure. *Cardiovasc Res*. 1998;39(1):89-105.
140. Frohlich ED. Is the spontaneously hypertensive rat a model for human hypertension? *J Hypertens Suppl*. 1986;4(3):S15-9.
141. Dickhout JG, Lee RM. Structural and functional analysis of small arteries from young spontaneously hypertensive rats. *Hypertension*. 1997;29(3):781-9.
142. Smith TL, Hutchins PM. Central hemodynamics in the developmental stage of spontaneous hypertension in the unanesthetized rat. *Hypertension*. 1979;1(5):508-17.
143. Folkow B. Early structural changes in hypertension: pathophysiology and clinical consequences. *J Cardiovasc Pharmacol*. 1993;22 Suppl 1:S1-6.
144. Palatini P, Julius S. Association of tachycardia with morbidity and mortality: pathophysiological considerations. *Journal of Human Hypertension*. 1997;11 Suppl 1:S19-27.
145. Iams SG, Wexler BC. Inhibition of the development of spontaneous hypertension in SH rats by gonadectomy or estradiol. *J Lab Clin Med*. 1979;94(4):608-16.
146. Ganten U, Schroder G, Witt M, Zimmermann F, Ganten D, Stock G. Sexual dimorphism of blood pressure in spontaneously hypertensive rats: effects of anti-androgen treatment. *Journal of Hypertension*. 1989;7(9):721-6.
147. Nigro D, Fortes ZB, Scivoletto R, Barbeiro HV, Carvalho MH. Sex-related differences in the response of spontaneously hypertensive rats to angiotensin-converting enzyme inhibitor. *Endothelium*. 1997;5(1):63-71.
148. Reckelhoff JF, Zhang H, Granger JP. Testosterone exacerbates hypertension and reduces pressure-natriuresis in male spontaneously hypertensive rats. *Hypertension*. 1998;31(1 Pt 2):435-9.
149. Chan V, Fenning A, Levick SP, Loch D, Chunduri P, Iyer A, et al. Cardiovascular changes during maturation and ageing in male and female spontaneously hypertensive rats. *J Cardiovasc Pharmacol*. 2011;57(4):469-78.
150. Capasso JM, Remily RM, Smith RH, Sonnenblick EH. Sex differences in myocardial contractility in the rat. *Basic Res Cardiol*. 1983;78(2):156-71.
151. Wang SN, Wyeth RP, Kennedy RH. Effects of gender on the sensitivity of rat cardiac muscle to extracellular Ca<sup>2+</sup>. *Eur J Pharmacol*. 1998;361(1):73-7.
152. Tamura T, Said S, Gerdes AM. Gender-related differences in myocyte remodeling in progression to heart failure. *Hypertension*. 1999;33(2):676-80.
153. Kokubo M, Uemura A, Matsubara T, Murohara T. Noninvasive evaluation of the time course of change in cardiac function in spontaneously hypertensive rats by echocardiography. *Hypertens Res*. 2005;28(7):601-9.
154. Cingolani OH, Yang XP, Cavaasin MA, Carretero OA. Increased systolic performance with diastolic dysfunction in adult spontaneously hypertensive rats. *Hypertension*. 2003;41(2):249-54.

155. Gerds E, Roman MJ, Palmieri V, Wachtell K, Smith G, Nieminen MS, et al. Impact of age on left ventricular hypertrophy regression during antihypertensive treatment with losartan or atenolol (the LIFE study). *Journal of Human Hypertension*. 2004;18(6):417-22.
156. Carvajal K, Moreno-Sanchez R. Heart metabolic disturbances in cardiovascular diseases. *Arch Med Res*. 2003;34(2):89-99.
157. Wambolt RB, Henning SL, English DR, Dyachkova Y, Lopaschuk GD, Allard MF. Glucose utilization and glycogen turnover are accelerated in hypertrophied rat hearts during severe low-flow ischemia. *J Mol Cell Cardiol*. 1999;31(3):493-502.
158. Christe ME, Rodgers RL. Altered glucose and fatty acid oxidation in hearts of the spontaneously hypertensive rat. *J Mol Cell Cardiol*. 1994;26(10):1371-5.
159. Reutter BW, Huesman RH, Brennan KM, Boutchko R, Hanrahan SM, Gullberg GT. Longitudinal Evaluation of Fatty Acid Metabolism in Normal and Spontaneously Hypertensive Rat Hearts with Dynamic MicroSPECT Imaging. *Int J Mol Imaging*. 2011;2011:893129.
160. Hajri T, Ibrahim A, Coburn CT, Knapp FF, Jr., Kurtz T, Pravenec M, et al. Defective fatty acid uptake in the spontaneously hypertensive rat is a primary determinant of altered glucose metabolism, hyperinsulinemia, and myocardial hypertrophy. *J Biol Chem*. 2001;276(26):23661-6.
161. Purushothaman S, Renuka Nair R, Harikrishnan VS, Fernandez AC. Temporal relation of cardiac hypertrophy, oxidative stress, and fatty acid metabolism in spontaneously hypertensive rat. *Mol Cell Biochem*. 2011;351(1-2):59-64.
162. Wiest DB, Haney JS. Clinical pharmacokinetics and therapeutic efficacy of esmolol. *Clinical Pharmacokinetics*. 2012;51(6):347-56.
163. Yokoyama H, Averill DB, Brosnihan KB, Smith RD, Schiffrin EL, Ferrario CM. Role of blood pressure reduction in prevention of cardiac and vascular hypertrophy. *American Journal of Hypertension*. 2005;18(7):922-9.
164. Conde MV, Gonzalez MC, Quintana-Villamandos B, Abderrahim F, Briones AM, Condezo-Hoyos L, et al. Liver growth factor treatment restores cell-extracellular matrix balance in resistance arteries and improves left ventricular hypertrophy in SHR. *American Journal of Physiology Heart and Circulatory Physiology*. 2011;301(3):H1153-65.
165. Conde MV, Marin J, Balfagon G. Superoxide anion and K<sup>+</sup> channels mediate electrical stimulation-induced relaxation in the rat basilar artery. *Eur J Pharmacol*. 1999;372(2):179-86.
166. Gundersen HJ, Bendtsen TF, Korbo L, Marcussen N, Moller A, Nielsen K, et al. Some new, simple and efficient stereological methods and their use in pathological research and diagnosis. *APMIS : Acta Pathologica, Microbiologica, et Immunologica Scandinavica*. 1988;96(5):379-94.
167. Lunkenheimer PP, Redmann K, Kling N, Jiang X, Rothaus K, Cryer CW, et al. Three-dimensional architecture of the left ventricular myocardium. *Anat Rec A Discov Mol Cell Evol Biol*. 2006;288(6):565-78.
168. Campos C, Guzman R, Lopez-Fernandez E, Casado A. Evaluation of the copper(II) reduction assay using bathocuproinedisulfonic acid disodium salt for the total antioxidant capacity assessment: the CUPRAC-BCS assay. *Analytical Biochemistry*. 2009;392(1):37-44.
169. Saleh L, Plieth C. A coelenterazine-based luminescence assay to quantify high-molecular-weight superoxide anion scavenger activities. *Nature Protocols*. 2010;5(10):1635-41.
170. Hawkins CL, Morgan PE, Davies MJ. Quantification of protein modification by oxidants. *Free Radical Biology & Medicine*. 2009;46(8):965-88.
171. Giustarini D, Rossi R, Milzani A, Dalle-Donne I. Nitrite and nitrate measurement by Griess reagent in human plasma: evaluation of interferences and standardization. *Methods in Enzymology*. 2008;440:361-80.
172. Miranda KM, Espey MG, Wink DA. A rapid, simple spectrophotometric method for simultaneous detection of nitrate and nitrite. *Nitric oxide : biology and chemistry / official journal of the Nitric Oxide Society*. 2001;5(1):62-71.
173. Schwedhelm E, Maas R, Tan-Andresen J, Schulze F, Riederer U, Boger RH. High-throughput liquid chromatographic-tandem mass spectrometric determination of arginine and dimethylated arginine derivatives in human and mouse plasma. *Journal of Chromatography B, Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*. 2007;851(1-2):211-9.



174. Maas R, Tan-Andreesen J, Schwedhelm E, Schulze F, Boger RH. A stable-isotope based technique for the determination of dimethylarginine dimethylaminohydrolase (DDAH) activity in mouse tissue. *Journal of Chromatography B, Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*. 2007;851(1-2):220-8.
175. Brooks WW, Conrad CH, Robinson KG, Colucci WS, Bing OH. L-arginine fails to prevent ventricular remodeling and heart failure in the spontaneously hypertensive rat. *American Journal of Hypertension*. 2009;22(2):228-34.
176. Tanaka M, Fujiwara H, Onodera T, Wu DJ, Hamashima Y, Kawai C. Quantitative analysis of myocardial fibrosis in normals, hypertensive hearts, and hypertrophic cardiomyopathy. *Br Heart J*. 1986;55(6):575-81.
177. Koprdoва R, Cebova M, Kristek F. Long-term effect of losartan administration on blood pressure, heart and structure of coronary artery of young spontaneously hypertensive rats. *Physiological Research/Academia Scientiarum Bohemoslovaca*. 2009;58(3):327-35.
178. Thybo NK, Korsgaard N, Eriksen S, Christensen KL, Mulvany MJ. Dose-dependent effects of perindopril on blood pressure and small-artery structure. *Hypertension*. 1994;23(5):659-66.
179. Neglia D, Fommei E, Varela-Carver A, Mancini M, Ghione S, Lombardi M, et al. Perindopril and indapamide reverse coronary microvascular remodelling and improve flow in arterial hypertension. *Journal of Hypertension*. 2011;29(2):364-72.
180. Li JS, Sharifi AM, Schiffrin EL. Effect of AT1 angiotensin-receptor blockade on structure and function of small arteries in SHR. *J Cardiovasc Pharmacol*. 1997;30(1):75-83.
181. Barone FC, Campbell WG, Jr., Nelson AH, Feuerstein GZ. Carvedilol prevents severe hypertensive cardiomyopathy and remodeling. *Journal of Hypertension*. 1998;16(6):871-84.
182. Xu Q, Chakravorty A, Bathgate RA, Dart AM, Du XJ. Relaxin therapy reverses large artery remodeling and improves arterial compliance in senescent spontaneously hypertensive rats. *Hypertension*. 2010;55(5):1260-6.
183. Cebova M, Kristek F. Age-dependent ultrastructural changes of coronary artery in spontaneously hypertensive rats. *Gen Physiol Biophys*. 2011;30(4):364-72.
184. Husken BC, van der Wal AC, Teeling P, Mathy MJ, Mertens MJ, Pul AJ, et al. Heterogeneity in morphological characteristics of coronary arteries and aortae in various models of hypertension. *Blood Pressure*. 1997;6(4):242-9.
185. Su W, Guo Z, Deschepper CF, Randall DC, Gong MC. Dissociation of coronary artery contractile hyperreactivity from hypertension. *American Journal of Hypertension*. 2003;16(7):570-6.
186. Vazquez-Perez S, Navarro-Cid J, de las Heras N, Cediél E, Sanz-Rosa D, Ruilope LM, et al. Relevance of endothelium-derived hyperpolarizing factor in the effects of hypertension on rat coronary relaxations. *Journal of Hypertension*. 2001;19(3 Pt 2):539-45.
187. Roque FR, Briones AM, Garcia-Redondo AB, Galan M, Martinez-Revelles S, Avendano MS, et al. Aerobic exercise reduces oxidative stress and improves vascular changes of small mesenteric and coronary arteries in hypertension. *British Journal of Pharmacology*. 2013;168(3):686-703.
188. Bernatova I. Endothelial dysfunction in experimental models of arterial hypertension: cause or consequence? *BioMed Research International*. 2014;2014:598271.
189. Wang Y, Zhang M, Liu Y, Liu Y, Chen M. The effect of nebivolol on asymmetric dimethylarginine system in spontaneously hypertension rats. *Vascul Pharmacol*. 2011;54(1-2):36-43.
190. Szajerski P, Zielonka J, Sikora A, Adamus J, Marcinek A, Gebicki J, et al. Radical scavenging and NO-releasing properties of selected beta-adrenoreceptor antagonists. *Free Radic Res*. 2006;40(7):741-52.
191. Horimoto H, Saltman AE, Gaudette GR, Krukenkamp IB. Nitric oxide-generating beta-adrenergic blocker nipradilol preserves postischemic cardiac function. *Ann Thorac Surg*. 1999;68(3):844-9.
192. Takai S, Kirimura K, Jin D, Muramatsu M, Yoshikawa K, Mino Y, et al. Significance of angiotensin II receptor blocker lipophilicities and their protective effect against vascular remodeling. *Hypertens Res*. 2005;28(7):593-600.
193. Boger RH, Zoccali C. ADMA: a novel risk factor that explains excess cardiovascular event rate in patients with end-stage renal disease. *Atherosclerosis Supplements*. 2003;4(4):23-8.

194. Zoccali C, Mallamaci F, Maas R, Benedetto FA, Tripepi G, Malatino LS, et al. Left ventricular hypertrophy, cardiac remodeling and asymmetric dimethylarginine (ADMA) in hemodialysis patients. *Kidney International*. 2002;62(1):339-45.
195. Napora M, Graczykowska A, Prochniewska K, Zdrojewski Z, Calka A, Gorny J, et al. Relationship between serum asymmetric dimethylarginine and left ventricular structure and function in patients with endstage renal disease treated with hemodialysis. *Polskie Archiwum Medycyny Wewnętrznej*. 2012;122(5):226-34.
196. Sibal L, Agarwal SC, Home PD, Boger RH. The Role of Asymmetric Dimethylarginine (ADMA) in Endothelial Dysfunction and Cardiovascular Disease. *Current Cardiology Reviews*. 2010;6(2):82-90.
197. Cooke JP. ADMA: its role in vascular disease. *Vascular Medicine*. 2005;10 Suppl 1:S11-7.
198. Li D, Xia K, Li NS, Luo D, Wang S, Jiang DJ, et al. Reduction of asymmetric dimethylarginine involved in the cardioprotective effect of losartan in spontaneously hypertensive rats. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*. 2007;85(8):783-9.
199. Guerrero EI, Ardanaz N, Sevilla MA, Arevalo MA, Montero MJ. Cardiovascular effects of nebivolol in spontaneously hypertensive rats persist after treatment withdrawal. *Journal of Hypertension*. 2006;24(1):151-8.
200. Bertomeu V C-CJ. Situación de la enfermedad cardiovascular en España. Del riesgo a la enfermedad. *Rev Esp Cardiol*. 2008;8(E):8.
201. Bickler SW, Spiegel DA. Global surgery--defining a research agenda. *Lancet*. 2008;372(9633):90-2.
202. Weiser TG, Regenbogen SE, Thompson KD, Haynes AB, Lipsitz SR, Berry WR, et al. An estimation of the global volume of surgery: a modelling strategy based on available data. *Lancet*. 2008;372(9633):139-44.
203. Semel ME, Lipsitz SR, Funk LM, Bader AM, Weiser TG, Gawande AA. Rates and patterns of death after surgery in the United States, 1996 and 2006. *Surgery*. 2012;151(2):171-82.
204. Kristensen SD, Knuuti J, Saraste A, Anker S, Botker HE, Hert SD, et al. 2014 ESC/ESA Guidelines on non-cardiac surgery: cardiovascular assessment and management: The Joint Task Force on non-cardiac surgery: cardiovascular assessment and management of the European Society of Cardiology (ESC) and the European Society of Anaesthesiology (ESA). *European Heart Journal*. 2014;35(35):2383-431.
205. Botto F, Alonso-Coello P, Chan MT, Villar JC, Xavier D, Srinathan S, et al. Myocardial injury after noncardiac surgery: a large, international, prospective cohort study establishing diagnostic criteria, characteristics, predictors, and 30-day outcomes. *Anesthesiology*. 2014;120(3):564-78.
206. Devereaux PJ, Sessler DI. Cardiac Complications in Patients Undergoing Major Noncardiac Surgery. *The New England Journal of Medicine*. 2015;373(23):2258-69.
207. Sabate S, Mases A, Guileria N, Canet J, Castillo J, Orrego C, et al. Incidence and predictors of major perioperative adverse cardiac and cerebrovascular events in non-cardiac surgery. *British Journal of Anaesthesia*. 2011;107(6):879-90.
208. Gupta PK, Gupta H, Sundaram A, Kaushik M, Fang X, Miller WJ, et al. Development and validation of a risk calculator for prediction of cardiac risk after surgery. *Circulation*. 2011;124(4):381-7.
209. Mangano DT, Layug EL, Wallace A, Tateo I. Effect of atenolol on mortality and cardiovascular morbidity after noncardiac surgery. Multicenter Study of Perioperative Ischemia Research Group. *The New England Journal of Medicine*. 1996;335(23):1713-20.
210. Poldermans D, Boersma E, Bax JJ, Thomson IR, van de Ven LL, Blankensteijn JD, et al. The effect of bisoprolol on perioperative mortality and myocardial infarction in high-risk patients undergoing vascular surgery. Dutch Echocardiographic Cardiac Risk Evaluation Applying Stress Echocardiography Study Group. *The New England Journal of Medicine*. 1999;341(24):1789-94.
211. Group PS, Devereaux PJ, Yang H, Yusuf S, Guyatt G, Leslie K, et al. Effects of extended-release metoprolol succinate in patients undergoing non-cardiac surgery (POISE trial): a randomised controlled trial. *Lancet*. 2008;371(9627):1839-47.
212. Bangalore S, Wetterslev J, Pranesh S, Sawhney S, Gluud C, Messerli FH. Perioperative beta blockers in patients having non-cardiac surgery: a meta-analysis. *Lancet*. 2008;372(9654):1962-76.
213. Dunkelgrun M, Boersma E, Schouten O, Koopman-van Gemert AW, van Poorten F, Bax JJ, et al. Bisoprolol and fluvastatin for the reduction of perioperative cardiac mortality and myocardial infarction in intermediate-risk patients undergoing noncardiovascular surgery: a randomized controlled trial (DECREASE-IV). *Annals of Surgery*. 2009;249(6):921-6.

214. Chopra V, Eagle KA. Perioperative mischief: the price of academic misconduct. *Am J Med.* 2012; 125:953-955.
215. Bouri S, Shun-Shin MJ, Cole GD, Mayet J, Francis DP. Meta-analysis of secure randomised controlled trials of beta-blockade to prevent perioperative death in non-cardiac surgery. *Heart.* 2014;100(6):456-64.
216. Angeli F, Verdecchia P, Karthikeyan G, Mazzotta G, Gentile G, Reboldi G. ss-Blockers reduce mortality in patients undergoing high-risk non-cardiac surgery. *American Journal of Cardiovascular Drugs: Drugs, Devices, and Other Interventions.* 2010;10(4):247-59.
217. Shammash JB, Trost JC, Gold JM, Berlin JA, Golden MA, Kimmel SE. Perioperative beta-blocker withdrawal and mortality in vascular surgical patients. *American Heart Journal.* 2001;141(1):148-53.
218. Frishman WH. Beta-adrenergic blocker withdrawal. *The American Journal of Cardiology.* 1987;59(13):26F-32F.
219. London MJ, Schwartz GG, Henderson WG. Mortality after perioperative beta-blocker use in noncardiac surgery-reply. *JAMA.* 2013;310(6):646.
220. Wallace AW, Au S, Cason BA. Perioperative beta-blockade: atenolol is associated with reduced mortality when compared to metoprolol. *Anesthesiology.* 2011;114(4):824-36.
221. Ashes C, Judelman S, Wijesundera DN, Tait G, Mazer CD, Hare GM, et al. Selective beta1-antagonism with bisoprolol is associated with fewer postoperative strokes than atenolol or metoprolol: a single-center cohort study of 44,092 consecutive patients. *Anesthesiology.* 2013;119(4):777-87.
222. Ibanez B, Fuster V, Macaya C, Sanchez-Brunete V, Pizarro G, Lopez-Romero P, et al. Study design for the "effect of METOpolol in CARDioproteCtioN during an acute myocardial InfarCtion" (METOCARD-CNIC): a randomized, controlled parallel-group, observer-blinded clinical trial of early pre-reperfusion metoprolol administration in ST-segment elevation myocardial infarction. *American Heart Journal.* 2012;164(4):473-80 e5.
223. Wang H, Tang W, Ristagno G, Li Y, Sun S, Wang T, et al. The potential mechanisms of reduced incidence of ventricular fibrillation as the presenting rhythm in sudden cardiac arrest. *Critical Care Medicine.* 2009;37(1):26-31.
224. Norris RM, Barnaby PF, Brown MA, Geary GG, Clarke ED, Logan RL, et al. Prevention of ventricular fibrillation during acute myocardial infarction by intravenous propranolol. *Lancet.* 1984;2(8408):883-6.
225. Randomised trial of intravenous atenolol among 16 027 cases of suspected acute myocardial infarction: ISIS-1. First International Study of Infarct Survival Collaborative Group. *Lancet.* 1986;2(8498):57-66.
226. The Cardiac Insufficiency Bisoprolol Study II (CIBIS-II): a randomised trial. *Lancet.* 1999;353(9146):9-13.
227. Packer M, Coats AJ, Fowler MB, Katus HA, Krum H, Mohacsi P, et al. Effect of carvedilol on survival in severe chronic heart failure. *The New England Journal of Medicine.* 2001;344(22):1651-8.
228. Poole-Wilson PA, Swedberg K, Cleland JG, Di Lenarda A, Hanrath P, Komajda M, et al. Comparison of carvedilol and metoprolol on clinical outcomes in patients with chronic heart failure in the Carvedilol Or Metoprolol European Trial (COMET): randomised controlled trial. *Lancet.* 2003;362(9377):7-13.
229. Kuhlkamp V, Schirdewan A, Stangl K, Homberg M, Ploch M, Beck OA. Use of metoprolol CR/XL to maintain sinus rhythm after conversion from persistent atrial fibrillation: a randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Journal of the American College of Cardiology.* 2000;36(1):139-46.
230. Plewan A, Lehmann G, Ndrepepa G, Schreieck J, Alt EU, Schomig A, et al. Maintenance of sinus rhythm after electrical cardioversion of persistent atrial fibrillation; sotalol vs bisoprolol. *European Heart Journal.* 2001;22(16):1504-10.
231. Crystal E, Connolly SJ, Sleik K, Ginger TJ, Yusuf S. Interventions on prevention of postoperative atrial fibrillation in patients undergoing heart surgery: a meta-analysis. *Circulation.* 2002;106(1):75-80.
232. Haverkamp W, Martinez-Rubio A, Hief C, Lammers A, Muhlenkamp S, Wichter T, et al. Efficacy and safety of d,l-sotalol in patients with ventricular tachycardia and in survivors of cardiac arrest. *Journal of the American College of Cardiology.* 1997;30(2):487-95.
233. Mathiassen ON, Buus NH, Sihm I, Thybo NK, Morn B, Schroeder AP, et al. Small artery structure is an independent predictor of cardiovascular events in essential hypertension. *Journal of Hypertension.* 2007;25(5):1021-6.
234. Schobel HP, Langenfeld M, Gatzka C, Schmieder RE. Treatment and post-treatment effects of alpha- versus beta-receptor blockers on left ventricular structure and function in essential hypertension. *American Heart Journal.* 1996;132(5):1004-9.

235. Wallace AW, Au S, Cason BA. Association of the pattern of use of perioperative beta-blockade and postoperative mortality. *Anesthesiology*. 2010;113(4):794-805.
236. London MJ, Hur K, Schwartz GG, Henderson WG. Association of perioperative beta-blockade with mortality and cardiovascular morbidity following major noncardiac surgery. *JAMA*. 2013;309(16):1704-13.
237. Lindenauer PK, Pekow P, Wang K, Mamidi DK, Gutierrez B, Benjamin EM. Perioperative beta-blocker therapy and mortality after major noncardiac surgery. *The New England Journal of Medicine*. 2005;353(4):349-61.
238. Knaus WA, Draper EA, Wagner DP, Zimmerman JE. APACHE II: a severity of disease classification system. *Critical Care Medicine*. 1985;13(10):818-29.
239. Ali IM, Sanalla AA, Clark V. Beta-blocker effects on postoperative atrial fibrillation. *European journal of cardio-thoracic surgery : official journal of the European Association for Cardio-thoracic Surgery*. 1997;11(6):1154-7.
240. Ackland GL, Iqbal S, Paredes LG, Toner A, Lyness C, Jenkins N, et al. Individualised oxygen delivery targeted haemodynamic therapy in high-risk surgical patients: a multicentre, randomised, double-blind, controlled, mechanistic trial. *The Lancet Respiratory Medicine*. 2015;3(1):33-41.
241. Scheeren TW, Wiesenack C, Gerlach H, Marx G. Goal-directed intraoperative fluid therapy guided by stroke volume and its variation in high-risk surgical patients: a prospective randomized multicentre study. *Journal of Clinical Monitoring and Computing*. 2013;27(3):225-33.
242. Cecconi M, Corredor C, Arulkumaran N, Abuella G, Ball J, Grounds RM, et al. Clinical review: Goal-directed therapy-what is the evidence in surgical patients? The effect on different risk groups. *Critical Care*. 2013;17(2):209.
243. Friedell ML, Van Way CW, 3rd, Freyberg RW, Almenoff PL. beta-Blockade and Operative Mortality in Noncardiac Surgery: Harmful or Helpful? *JAMA Surgery*. 2015;150(7):658-63.
244. Shoemaker WC, Kram HB, Appel PL, Fleming AW. The efficacy of central venous and pulmonary artery catheters and therapy based upon them in reducing mortality and morbidity. *Archives of Surgery*. 1990;125(10):1332-7.
245. Wijeyesundera DN, Duncan D, Nkonde-Price C, Virani SS, Washam JB, Fleischmann KE, et al. Perioperative beta blockade in noncardiac surgery: a systematic review for the 2014 ACC/AHA guideline on perioperative cardiovascular evaluation and management of patients undergoing noncardiac surgery: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. *Circulation*. 2014;130(24):2246-64.
246. Goffi L, Saba V, Ghiselli R, Necozone S, Mattei A, Carle F. Preoperative APACHE II and ASA scores in patients having major general surgical operations: prognostic value and potential clinical applications. *The European Journal of Surgery Acta Chirurgica*. 1999;165(8):730-5.
247. Eto K, Yoshida N, Iwatsuki M, Kurashige J, Ida S, Ishimoto T, et al. Surgical Apgar Score Predicted Postoperative Morbidity After Esophagectomy for Esophageal Cancer. *World Journal of Surgery*. 2016.

# ***ÍNDICE DE FIGURAS Y TABLAS***

## Figuras

Fig. 1.- Papel fisiopatológico de ADMA y procesos que intervienen en su eliminación.....	29
Fig. 2.- Representación de la estructura terciaria del receptor $\beta$ - adrenérgico.....	33
Fig. 3.- Estructura química del esmolol .....	42
Fig. 4.- Material de laboratorio utilizado para estudio fisiológico.....	61
Fig. 5.- Montaje de arterias en el miógrafo de alambre .....	65
Fig. 6.- Corazón de rata sumergido en suero fisiológico y fijado a una placa de Petri .....	66
Fig. 7.- Esquema de la reacción base del método CUPRAC- BCS.....	67
Fig. 8.- Esquema de la reacción luminiscente del método SOSA .....	68
Fig. 9.- Procedimiento del ensayo de SOSA .....	68
Fig. 10.- Esquema de la reacción de Griess para cuantificación de nitritos.....	71
Fig. 11.- Presión arterial sistólica en ratas WKY, SHR y en SHR-E.....	76
Fig. 12.- Frecuencia cardíaca en ratas WKY, SHR y SHR-E.....	76
Fig. 13.- Análisis histológico de diversos parámetros estructurales de arteria intramiocárdica del VI .....	78
Fig. 14.- Cortes histológicos representativos de arteria intramiocárdica del VI.....	79
Fig. 15.- Imágenes confocales de cortes transversales de la ACDA .....	80
Fig. 16.- Imágenes confocales de cortes longitudinales de la capa media de la ACDA.....	80
Fig. 17.- Análisis de parámetros morfológicos de la capa media de la ACDA por microscopía confocal.....	81
Fig. 18.- Imágenes confocales de cortes longitudinales de la capa adventicia de la ACDA.....	82
Fig. 19.- Análisis de parámetros morfológicos de la capa adventicia de la ACDA por microscopía confocal.....	83
Fig. 20.- Respuesta vasodilatadora endotelio-dependiente y endotelio-independiente en ACDA .....	85
Fig. 21.- Respuesta vasoconstrictora inducida por 5-HT en ACDA y su respectiva área bajo la curva.....	86
Fig. 22.- Determinación de biomarcadores de estrés oxidativo en plasma.....	88
Fig. 23.- Estudio de biomarcadores de disfunción endotelial en ventrículo izquierdo.....	89
Fig. 24.- Valores plasmáticos de diversos biomarcadores de disfunción endotelial.....	90
Fig. 25.- Factores preoperatorios, intraoperatorios y postoperatorios asociados a desarrollo de complicaciones cardíacas en cirugía mayor no cardíaca.....	105
Fig. 26.- Estudios que confirman aumento de supervivencia en pacientes con IC tratados con $\beta$ - bloqueantes.....	113
Fig. 27.- Protocolo de ‘Terapia Guiada por Objetivos’ utilizado en nuestro estudio.....	121
Fig. 28.- Distribución de la morbilidad cardiovascular en la población de estudio; en función la exposición o no exposición o no a $\beta$ -bloqueantes .....	126
Fig. 29.- Tratamiento antihipertensivo seguido por los pacientes previamente a la cirugía.....	127
Fig. 30.- Consumo de los diferentes tipos de $\beta$ -bloqueantes por los pacientes del estudio.....	127

## **Tablas:**

✚ Tabla 1.- Efectos mediados por activación de diferentes subtipos de receptores adrenérgicos $\beta$ .....	36
✚ Tabla 2.- Clasificación de $\beta$ -bloqueantes atendiendo a su selectividad por subtipos de receptores $\beta$ y $\alpha$ .....	38
✚ Tabla 3.- Efectos farmacodinámicos de los fármacos $\beta$ -bloqueantes a nivel cardiovascular.....	38
✚ Tabla 4.- Grupos experimentales y número de animales incluidos en cada grupo.....	57
✚ Tabla 5.- Lista de material utilizado para el estudio histológico y de microscopía óptica .....	59
✚ Tabla 6.- Lista de material utilizado para el estudio microscopía confocal .....	60
✚ Tabla 7.- Lista de material utilizado para el estudio de la función arterial .....	60
✚ Tabla 8.- Lista de reactivos utilizados para el estudio del estrés oxidativo .....	60
✚ Tabla 9.- Equipos utilizados para el estudio del estrés oxidativo .....	61
✚ Tabla 10.- Equipo y solución utilizados para el estudio de biomarcadores de disfunción endotelial .....	61
✚ Tabla 11.- Composición de la solución de orceína y protocolo de tinción .....	62
✚ Tabla 12.- Composición del reactivo AR-CAT utilizado para mediar la actividad catalasa .....	70
✚ Tabla 13.- Peso de las ratas WKY, SHR y SHR-E .....	75
✚ Tabla 14.- Recomendaciones sobre el uso perioperatorio de $\beta$ -bloqueantes.....	107
✚ Tabla 15.- Clases de recomendaciones y nivel científico de evidencia.....	107
✚ Tabla 16.- Efecto de los $\beta$ -bloqueantes en desarrollo de IAM en el perioperatorio.....	108
✚ Tabla 17.- Efecto de los $\beta$ -bloqueantes en desarrollo de ACVA en perioperatorio.....	108
✚ Tabla 18.- Influencia de los $\beta$ -bloqueantes en la mortalidad perioperatoria.....	109
✚ Tabla 19.- Estudios prospectivos randomizados incluidos en el meta-análisis de Bouri S (2014).....	109
✚ Tabla 20.- Propiedades farmacológicas de los $\beta$ -bloqueantes.....	111
✚ Tabla 21.- Recomendaciones del uso terapia con $\beta$ -bloqueantes a largo plazo.....	112
✚ Tabla 22.- Datos clínicos basales del estudio.....	125
✚ Tabla 23.- Datos clínicos del periodo postoperatorio.....	130
✚ Tabla 24.- Análisis comparativo de los datos del subgrupo tratado con bloqueante cardiosselectivo $\beta_1$ y subgrupo no tratado.....	132
✚ Tabla 25.- Escala de puntuación APACHE-II.....	162
✚ Tabla 26.- Interpretación de la escala APACHE-II.....	163
✚ Tabla 27.- Escala de puntuación SAS.....	163

***ANEXOS***



## **ANEXO 1: DEFINICIONES**

1. Complicación infecciosa: toda infección, sea local o diseminada (sepsis), que se diagnostique por la clínica y por el estudio microbiológico, y se trate con un tratamiento antibiótico específico.
2. Complicación cardiovascular: infarto agudo de miocardio (con o sin elevación del ST), arritmias (en concreto, fibrilación auricular o flutter), shock cardiogénico, insuficiencia cardíaca descompensada.
3. Complicación renal: insuficiencia renal aguda, definida por el aumento diario de la creatinina sérica de 0,5mg/dl/día (1mg/dl/día en pacientes con enfermedad renal crónica), precise o no de técnicas de depuración extrarrenal.
4. Intubación prolongada: pacientes que requieren mantener ventilación mecánica durante un tiempo mayor a 3 días tras la cirugía, en la mayor parte de los casos por insuficiencia respiratoria, siendo el resto por desarrollo de complicaciones.
5. Neumonía: definida por el desarrollo de infiltrado alveolar en prueba de imagen, acompañado de fiebre/hipotermia y leucocitosis/leucopenia.
6. Insuficiencia cardíaca: pacientes con disnea, infiltrado alveolar bilateral, hipoxemia y evidencia de deterioro de la función cardíaca.
7. Complicación neurológica: accidente cerebrovascular o síndrome confusional agudo.
8. Complicación gastrointestinal: hematemesis o melenas, perforación u obstrucción intestinal, dehiscencia de suturas, peritonitis.
9. Complicación de la herida quirúrgica: dehiscencia, herniación o infección de pared abdominal.
10. Necesidad de transfusión: decisión de pasar un concentrado de sangre a criterio propio del médico responsable, en base a umbral de hemoglobina o bien porque la situación clínica del paciente lo requiere.
11. Cirugía emergente: realizada en menos de 24 horas después de la aparición de un evento agudo.

## ANEXO 2: ESCALAS CLÍNICAS

### 1.- Acute Physiology and Chronic Health Evaluation II (APACHE-II) score

Esta escala fue introducida por primera vez en 1981 y publicada en 1985 (238). El sistema APACHE II predice de manera individualizada la morbilidad, asignando una puntuación basada en 12 variables fisiológicas, pero no tiene en cuenta el tipo de cirugía ya que esta escala fue inicialmente diseñada para pacientes críticos. A pesar de ello, esta escala ha demostrado ser mejor que el sistema ASA para predecir el resultado postoperatorio (246).

**Tabla 25.-** Escala de puntuación del APACHE-II (Tomada de Knauss et al, 1985).

Puntuación APACHE II												
APS	4	3	2	1	0	1	2	3	4			
Tª rectal (°c)	> 40,9	39-40,9		38,5-38,9	<b>36-38,4</b>	34-35,9	32-33,9	30-31,9	< 30			
Pres. arterial media	> 159	130-159	110-129		<b>70-109</b>		50-69		< 50			
Frec. cardíaca	> 179	140-179	110-129		<b>70-109</b>		55-69	40-54	< 40			
Frec. respiratoria	> 49	35-49		25-34	<b>12-24</b>	10-11	6-9		< 6			
Oxigenación: Si FIO2 ≥ 0,5 (AaDO2) Si FIO2 ≤ 0,5 (paO2)	> 499	350-499	200-349		< 200							
					> 70	61-70		56-60	< 56			
pH arterial	> 7,69	7,60-7,69		7,50-7,59	<b>7,33-7,49</b>		7,25-7,32	7,15-7,24	< 7,15			
Na plasmático (mmol/l)	> 179	160-179	155-159	150-154	<b>130-149</b>		120-129	111-119	< 111			
K plasmático (mmol/l)	> 6,9	6,0-6,9		5,5-5,9	<b>3,5-5,4</b>	3,0-3,4	2,5-2,9		< 2,5			
Creatinina * (mg/dl)	> 3,4	2-3,4	1,5-1,9		<b>0,6-1,4</b>		< 0,6					
Hematocrito (%)	> 59,9		50-59,9	46-49,9	<b>30-45,9</b>		20-29,9		< 20			
Leucocitos (x 1000)	> 39,9		20-39,9	15-19,9	<b>3-14,9</b>		1-2,9		< 1			
Suma de puntos APS												
Total APS												
15 - GCS												
EDAD	Puntuación	ENFERMEDAD CRÓNICA		Puntos APS (A)	Puntos GCS (B)	Puntos Edad (C)	Puntos enfermedad previa (D)					
≤ 44	0	Postoperatorio programado	2				Total Puntos APACHE II (A+B+C+D)					
45 - 54	2	Postoperatorio urgente o Médico	5	Enfermedad crónica: Hepática: cirrosis (biopsia) o hipertensión portal o episodio previo de fallo hepático Cardiovascular: Disnea o angina de reposo (clase IV de la NYHA) Respiratoria: EPOC grave, con hipercapnia, policitemia o hipertensión pulmonar Renal: diálisis crónica Inmunocomprometido: tratamiento inmunosupresor inmunodeficiencia crónicos								
55 - 64	3											
65 - 74	5											
≥ 75	6											

**Tabla 26.-** Interpretación de la escala APACHE-II (*Tomada de Knauss et al, 1985*).

Puntuación	Mortalidad
0-4	4%
5-9	8%
10-14	15%
15-19	25%
20-24	40%
25-29	55%
30-34	75%
>34	85%

## **2.- Surgical Apgar Score (SAS)**

Consiste en una escala de estimación del riesgo postoperatorio de desarrollar una complicación mayor, incluida la muerte (247). Evalúa las alteraciones hemodinámicas y el sangrado intraoperatorio, fundamentalmente.

**Tabla 27.-** Escala de puntuación SAS (*Adaptada de Eto K. et al, 2016*).

	0 puntos	1 punto	2 puntos	3 puntos	4 puntos
Pérdida estimada sangre (ml)	>1000	601-1000	101-600	≤ 100	0
Cifra menor de PAM (mmHg)	<40	40-54	55-69	≥ 70	0
Cifra menor de FC (lpm)	>85	76-85	66-75	55-65	≤ 55